

ANNEE 1970

N°

4

THESE
POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE

(DIPLOME D'ETAT)

PAR

MONSIEUR ROMANO Philippe

né le 27 mars 1943

PRESENTEE ET SOUTENUE LE :

VACCINS ET SERUMS HYPERIMMUNISES
DANS LA LUTTE CONTRE LES
SURINFECTIONS A PSEUDOMONAS-AERUGINOSA

PRESIDENT DE THESE : MONSIEUR LE PROFESSEUR DAGUET

FACULTE de MEDECINE de PARIS - CRETEIL

Année 1970.

THESE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE
(DIPLOME D'ETAT)

par

monsieur ROMANO Philippe

né le 27 mars 1943

Vaccins et Sérums Hyperimmunisés
pour lutter contre les surinfections
à *Pseudomonas aeruginosa* chez les brûlés.

- obtention.
- utilisation.
- efficacité.

Vu, le Président de thèse, monsieur le Professeur DAGUET, G.L.



Je dédie ma thèse,

A ma Claude.

Toi ma petite femme,
compagne d'études et de vie,
je t'offre ce travail,
auquel tu as beaucoup participé;
c'est l'aboutissement de lutttes menées
ensemble, en communion.
Tu as été le mobile,
le moteur de mes efforts,
Que cette thèse soit
une pierre à l'édifice de notre amour.

A nos Enfants.

objet de préoccupation,
mais insondable source de joie et d'espoir.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41551625_0004

A monsieur le Professeur DAGUET, G.L.

Biologiste des Hôpitaux,
Chef du service de Microbiologie du
Centre Hospitalo Universitaire Saint-Antoine.

Il m'a suggéré ce travail,
il m'a aidé à le réaliser en
prodiguant ses conseils.

Il m'a fait l'honneur d'accepter la
présidence de cette thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici
l'expression de ma profonde gratitude.

A monsieur le Docteur MARLAND, P.

Médecin des Hôpitaux,

Professeur au Collège de Médecine,

Chef du service de Pathologie Respiratoire

chronique de l'hôpital A.Chenevier (Créteil).

Il m'a accueilli avec la plus grande

bienveillance dans son service, il m'a fait

profiter de son enseignement,

il m'a permis d'assumer des taches hospitalières.

Qu'il trouve ici l'expression de ma

profonde reconnaissance.

A monsieur le Docteur SOLLE,R.

Chef du service de Bactériologie du C.H.I.Créteil.

Il nous a toujours accueilli et conseillé
très amicalement.

Qu'il veuille bien accepter ma respectueuse et
amicale reconnaissance.

A madame le docteur DURIEUX,R.

Assistante de Bactériologie au C.H.I.Créteil.

Chargée de recherche à l'I.N.S.E.R.M.

Elle m'a aidé dans ce travail,
me prodiguant ses conseils,
me faisant part de ses expériences.

Qu'elle veuille bien trouver ici l'expression
de ma respectueuse reconnaissance et
accepter mes vœux d'encouragement.

A ceux qui m'ont marqué par la richesse humaine de leur enseignement.

Monsieur le professeur DEPARIS, M.

Monsieur le professeur TUCHMANN-DUPLESSIS, H.

Monsieur le docteur GALLOUEDEC, Ch. , assistant des hôpitaux.

A ceux qui ont été mes maîtres pendant mes études.

Monsieur le professeur DUVAL, J.

Monsieur le professeur BROCARD, H.

Monsieur le professeur GOLVAN, Y. J.

Monsieur le professeur GERMAIN, A.

Monsieur le professeur LOYGUE, J.

Monsieur le professeur BRUMPT, L. C.

Monsieur le professeur agrégé HATT, P. Y.

Monsieur le professeur agrégé BARBIZET, J.

Monsieur le professeur agrégé HOUIN, R.

Monsieur le docteur DEMASSIEUX, J-L.

Monsieur le docteur BLATRIX, Ch.

Madame le docteur WACHE-VALIN, M.

Monsieur le docteur PERLEMUTER, L.

Monsieur le docteur LE BOUAR, Y.

Monsieur le docteur DUPUIS, G.

A toutes celles qui dans les services m'ont appris leur métier
et m'ont aidé à exercer mes fonctions.

A mes Parents.

Ils m'ont permis de débiter cette vocation qu'est
la Médecine.

Qu'ils trouvent ici l'expression de mon affection et
de ma reconnaissance.

Papa, crois en mon admiration pour le chemin que tu as parcouru.

A Mamée.

Son dévouement, son inépuisable aide nous ont toujours soutenus.

Qu'elle trouve ici l'expression de ma très grande affection.

A Mamé, à Papé.

Qu'ils trouvent ici l'expression de mon affection.

Aux Parents de ma Femme.

En reconnaissance de l'affection qu'ils nous témoignent.

A nos Familles.

A nos Amis.

V A C C I N S e t

S E R U M S H Y P E R I M M U N I S E S

pour lutter contre les surinfections à

Pseudomonas aeruginosa

chez les brûlés.

Les surinfections par *Pseudomonas* sont, comme de nombreuses affections bactériennes, de plus en plus fréquentes, surtout en milieu hospitalier du fait de la sélection de souches résistantes à de nombreux antibiotiques.

Il est donc très important de dépister à temps ces complications surtout dans les services de brûlés où leur gravité y est extrême.

Afin d'éviter une issue fatale, hélas fréquente, une thérapeutique efficace doit être recherchée et mise en oeuvre.

Devant cette gravité, il paraît plus satisfaisant pour l'esprit d'envisager une lutte non plus uniquement curative mais de parti pris préventive, permettant ainsi de faire diminuer la gravité de cette surinfection, gravité liée non seulement aux toxines du germe mais aussi à sa redoutable résistance aux antibiotiques.

Tenter de définir par quel mécanisme le bacille est redoutable pour l'homme, viser à l'amélioration des conditions de diagnostic par une meilleure connaissance de ses caractères biologiques, chercher à préciser quel est le point actuel de l'état des travaux effectués sur l'obtention de vaccins et de sérums hyperimmunisés tels sont les objectifs de ce travail.

Notre but est d'essayer de faire une mise au point aussi complète que possible des travaux effectués ces dernières années.

Nous tenterons de dégager quelles sont les possibilités curatives et surtout préventives pour lutter contre l'infection des brûlés par *Pseudomonas aeruginosa*.

Nous avons divisé notre travail en cinq grands chapitres ;

I. le BRÛLE.

PSEUDOMONAS AERUGINOSA, avec : - Etude de sa Biologie.

- Etude de son Fractionnement.

- Etude et classification
des Souches.

Problèmes posés par la PROTECTION ANTI-PSEUDOMONAS.

Le BILAN des RECHERCHES actuelles sur les VACCINS et

les SERUMS HYPERIMMUNISES, avec l'étude de

diverses écoles : - leurs techniques.

- leurs études expérimentales.

- les essais cliniques effectués.

II. LES BRÛLÉS.

Premier Chapitre.

Le B R U L E .

Le BRULE

Sans vouloir reprendre l'étude sémiologique des brûlures dans son ensemble, nous insisterons sur le problème infectieux.

Chez tout brûlé grave, dès que le choc hypovolémique est efficacement combattu, le problème de la cicatrisation des surfaces lésées va s'imposer et devenir majeur.

Transformer la brûlure, plaie ouverte, en plaie fermée offre de nombreux avantages: arrêt de la fuite plasmatique,
stabilisation des fonctions métaboliques
et viscérales.

Toutefois une complication redoutable risque d'apparaître et de contrecarrer une telle évolution à priori favorable: c'est l'INFECTION.

I. L'INFECTION.

Elle est pratiquement toujours présente à partir de la deuxième semaine dans les brûlures profondes et étendues. Infection de surface inévitable car les nécroses constituent un milieu de culture favorable pour le développement des germes.

Cette infection, facteur agressif, présente de nombreux inconvénients:

1° LOCALEMENT.

L'infection influe sur l'avenir de la cicatrice en favorisant, par la réaction locale qu'elle entraîne, l'apparition de la "cicatrice vicieuse" avec brides, rétraction, troubles trophiques et vaso-moteurs. En cas de brûlure profonde, l'infection instaure un cercle vicieux qui entretient la non épidermisation des plaies. Celle-ci favorise une exsudation continue au niveau des régions lésées, aboutissant en définitive à la cachexie.

2°/ Sur le PLAN GENERAL.

L'infection perturbe un équilibre difficilement acquis; elle assombrit le pronostic vital en cas de localisation à distance et surtout de septicémies, en règle graves.

Ces septicémies prennent souvent une allure bâtarde; avec fièvre, soit en plateau soit désarticulée, avec des frissons, des troubles digestifs intenses (anorexie, diarrhée, ballonnement).

Parfois les hémocultures restent négatives, soit que la rareté des voies d'abord veineux empêche leur répétition, soit

qu'il s'agisse plutôt de décharges bactériennes que de septicémies vraies.

Quoiqu'il en soit, l'infection demeure la cause de plus de cinquante pour cent des décès parmi les grands brûlés.

Les progrès réalisés dans la thérapeutique du choc et dans l'application des greffes, en prolongeant la survie des brûlés, permettent de plus en plus souvent l'apparition et le développement des complications infectieuses qui vont alors jusqu'à occuper le premier plan du tableau clinique.

De nombreuses publications tant françaises qu'étrangères ont largement démontré que les infections à *Pseudomonas aeruginosa* observées dans les centres de traitement pour brûlés peuvent avoir des causes très variées:

- origine aérienne par contamination de nébulisateurs, d'appareil de respiration assistée, de circuits d'air conditionné.
 - préparations médicamenteuses présumées stériles, mais en fait contaminées au moment de leur conditionnement ou de leur emploi.
 - sélection du contaminant microbien par les antiseptiques.
 - dissémination microbienne à partir d'une lésion cutanée.
 - techniques opératoires insuffisamment codifiées, que ce soit au cours d'investigation instrumentales ou d'interventions locales.
- Cette cause est certainement une grande responsable de l'infection.
- Il faut se souvenir que tout geste local, comme

excision dans le bain, reproduit, comme certains l'ont décrit, l'effet "d'un coup de pied dans une fourmilière".

II/ La LUTTE ANTI-INFECTIEUSE.

Elle est à mener sur deux tableaux; curatif et, systématiquement préventif.

A/ Mesures PREVENTIVES.

1°/ Sur les lieux de l'accident.

Nous nous permettons de rappeler qu'il est important de proscrire certains gestes.

Il ne faut pas dévêtir

désinfecter

"panseur". Les uns et les autres gestes

faits en de mauvaises conditions techniques, sont plus néfastes qu'utiles.

Il est au contraire indispensable d'isoler le brûlé, d'écarter les curieux et "aides" incompetents et de diriger aussi rapidement que possible le blessé vers un centre hospitalier; centre spécialisé dans le traitement de ces victimes s'il en existe un à proche distance.

2°/ A l'hôpital.

Il faut prendre des mesures strictes d'aseptie.

Mesures rigoureuses tant pour les locaux que pour le matériel et le personnel.

Cependant, la création de centres aseptiques pour le traitement des brûlés n'a pas, comme leurs promoteurs l'avaient espéré, supprimé le grave problème de l'infection.

B/ Mesures CURATIVES.

1°/ La lutte anti-infectieuse est menée grâce aux antiseptiques et aux antibiotiques.

a) Nous pensons utile de rappeler brièvement les principes, pratiquement reconnus par tous, pour qu'une antibiothérapie soit efficace.

- Il faut utiliser des produits bactéricides aux doses thérapeutiques usuelles.

- La monothérapie est à proscrire.

Cette pratique aboutit à une résistance très rapide des germes.

- Il faut associer deux antibiotiques.

Chimiothérapie adaptée aux résultats des examens bactériologiques effectués sur des prélèvements locaux ou à partir des hémocultures.

Si l'antibiogramme s'avère suffisant pour les infections courantes sans gravité, dans le cas des infections qui apparaissent chez les brûlés et surtout si le germe responsable est le *Pseudomonas aeruginosa*, il est nécessaire d'adapter le traitement sur les résultats de l'étude du pouvoir bactéricide des associations d'antibiotiques. Cet examen est plus approfondi, plus fidèle et beaucoup plus précis que l'antibiogramme par disques sur gélose en boîte de Pétri.

On choisira ainsi deux antibiotiques dont l'association est bactéricide.

On considère comme bactéricide une association si le nombre des germes survivants, in vitro est égal ou inférieur à 0,01 pour 100.

Dans ce cas l'action des deux antibiotiques est alors additive voir potentialisatrice et certainement pas antagoniste.

- La dose d'antibiotiques doit être maximum d'emblée.

La durée du traitement doit être suffisamment longue, son arrêt ne sera décidé que huit jours après la négativation des examens bactériologiques et la disparition des signes cliniques.

Cette interruption sera, non pas progressive, mais brutale.

b) Cependant, l'expérience montre que malgré l'application stricte de ces règles fondamentales, l'antibiothérapie pose de gros problèmes quant à son efficacité, surtout pour ce qui est de la lutte contre le *Pseudomonas aeruginosa*.

Cette antibiothérapie est source de nombreux déboirs, car de fréquentes résistances apparaissent en cours de traitement et assombrissent encore un peu plus le pronostic.

2°/ Nous pensons pouvoir cependant signaler que quelques antibiotiques ont parfois une bonne efficacité dans les infections localisées, comme les foyers de suppuration au niveau des brûlures, ou dans les infections profondes où le risque de septicémie est d'autant plus grave qu'il s'agit de sujets à l'état général très déficient.

Ce sont:

- La colistine.
- La polymyxine B.

Ces deux antibiotiques, de composition chimique complexe, font partie de la famille des polypeptidiques.

Les antibiotiques de cette famille se singularisent par une origine microbienne, ils sont sécrétés par des variétés du genre bacillus.

Le grand inconvénient des antibiotiques de cette famille est leur toxicité pour le parenchyme rénal. En effet leur élimination s'effectue essentiellement par voie urinaire, en huit à douze heures lorsque les fonctions rénales sont normales. Les drogues sont alors éliminées sous forme active.

À la suite d'une injection intra-musculaire on obtient rapidement des concentrations sanguines bactéricides vis à vis des espèces sensibles.

La diffusion des antibiotiques polypeptidiques est médiocre: les taux tissulaires restent inférieurs à ceux du sérum. Le rein fait cependant exception, on y observe un gradient progressif de concentrations croissantes dans l'ordre: sang, corticale, médullaire, urines.

- La Gentamycine.

Cet antibiotique appartient à la famille des aminosides.

Il est exclusivement utilisé par voie parentérale. On obtient en règle, dans le sérum des malades, un taux bactéricide, aux concentrations sériques usuelles.

Il diffuse assez médiocrement dans les organes, et le plus souvent, le rapport de la concentration tissulaire à la concentration sérique reste inférieur à l'unité.

Son élimination se fait par le rein sous forme

active.

Sa concentration urinaire est largement supérieure à celle obtenue dans le sang. Mais cette excrétion quasi exclusive par le rein explique les dangereuses accumulations observées chez les insuffisants rénaux, ce qui majore d'autant les risques auriculaires. Actuellement, cet antibiotique, que l'on peut encore considérer comme récent présente une bonne activité contre le *Pseudomonas aeruginosa*, peu de souches lui sont résistantes.

Ce bref et aprtiel rappel permet de saisir à quel point le traitement des brûlés par les antibiotiques est difficile et souvent décevant.

3°/ Ces différents problèmes et difficultés expliquent l'intérêt d'un nombre croissant de chercheurs pour la découverte d'une possibilité prophylactique et curative autre. La voie immunologique est séduisante, avec la possibilité de vaccins et de sérums hyperimmunisés anti-*Pseudomonas aeruginosa*.

Deuxième Chapitre

PNEUMONAS AERUGINOSA

la bactérie Pseudomonas aeruginosa

A/ - Bacille isolé pour la première fois en 1882 par GESSARD.

- Selon la classification de PREVOT, A.R., *Pseudomonas aeruginosa* est 1°

espèce	aeruginosa	du
genre	Pseudomonas	de la
tribu	Pseudomonadeae	de la
famille	Pseudomonadaceae	de l'
ordre	Bacteriales	de la
classe	Asporulales	du
sous-embranchement	Eubacteria	de l'
embranchement	Schizomycètes.	

1°/ Pseudomonas aeruginosa est un fin batonnet

long de un à trois microns.

large de un demi micron.

rectiligne ou, parfois, incurvé (polymorphisme).

dont les extrémités sont arrondies.

Ce bacille asporulé ne possède pas de capsule.

2°/ *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie très mobile

on la voit se déplacer rapidement dans le

champ microscopique lors de l'examen direct

en sérum physiologique.

Cette mobilité rapide est due à une ciliature polaire. Il existe un seul cil ou flagelle.

3°/ L'identification de Pseudomonas aeruginosa par coloration de frottis le range dans la catégorie des bacilles gram négatif.
Les colorants basiques d'aniline teintent facilement le corps bacillaire.
Les techniques usuelles ne mettent pas en évidence le flagelle. Par la coloration de RHODES la ciliature monotriche est mise en évidence.

4°/ Après plus de vingt quatre heures de culture, on observe fréquemment des formes plus longues, parfois même filamenteuses.
L'aspect des cultures devient alors beaucoup plus polymorphe, moins caractéristique.

C/ Caractères Généraux de culture.

1°/ Pseudomonas aeruginosa est un germe très peu exigeant. Il peut être cultivé sur les milieux nutritifs simples, synthétiques, avec comme seule source d'azote un sel d'ammonium et du citrate de sodium comme seule source de carbone.
Ainsi le bouillon et la gélose "ordinaires" conviennent parfaitement à sa croissance.

2°/ Si la température optima de culture est trente sept degrés, la tolérance thermique de *Pseudomonas aeruginosa* est assez grande; on peut le cultiver entre cinq degrés et quarente deux degrés.

5°/ Quant au Ph ,il peut lui aussi varier dans certaines limites.

Des variations entre cinq et demi et huit et demi n'entraînent pas de gêne pour le développement de *Pseudomonas aeruginosa*.

4°/ En bouillon nutritif, après quelques heures d'étuve, on observe un trouble homogène, tandis qu'à la surface s'est formée une pellicule grisâtre, voile qui s'épaissit, puis se fragmente et enfin sédimente au fond du ballon.

Après vingt quatre heures, une coloration bleu-vert apparaît à la surface du bouillon.

A ce moment, il se dégage une odeur douceâtre caractéristique, odeur aromatique comparée à celle de la fleur de seringa.

5°/ Sur gélose ordinaire, après vingt quatre heures d'étuve, les colonies peuvent se présenter sous trois aspects:

a) Type "smooth",

caractérisé par leur forme arrondie et leur aspect lisse.

b) Type "rough",

les colonies y sont rugueuses.

c) Type "S-R".

Il est caractérisé par l'association des deux formes précédentes.

+ au centre; les colonies sont lisses
translucides
à surface
bombée.

+ à la périphérie; les colonies y sont

▼ grandes.

▼ arrondies.

▼ mates à reflets nacrés, parfois
métalliques; d'où *Pseudomonas*, qui veut
dire: semblable à l'airain.

▼ leur surface est plate.

▼ leurs bords sont irréguliers.

Ce qui fait d'emblée suspecter *Pseudomonas aeruginosa*
c'est l'apparition, souvent dès les vingt quatrièmes
d'une coloration bleu-vert.

Pigmentation apparaissant d'abord au niveau
des colonies confluentes puis diffusant dans
le milieu.

8°/ Sur gélose molle, il est possible d'étudier la mobilité
de ce bacille.

La culture ne se fait qu'en surface et la
mobilité est mise en évidence par l'aspect
de la culture en disques; culture en forme
de "parapluie", à deux millimètres sous la surface.

D/ Les PIGMENTS.

Pseudomonas aeruginosa élabore quatre pigments qui diffusent dans le milieu.

1°/ La PYOCYANINE.

- = Elle est caractéristique de l'espèce *Pseudomonas aeruginosa*.
- = C'est un pigment soluble dans l'eau et dans le chloroforme.
Par évaporation d'une solution chloroformique, on obtient des cristaux bleus en aiguilles, disposés en étoile.
- = Une solution aqueuse se comporte comme un indicateur de Ph.
En milieu acide elle est rouge,
elle est bleue en milieu alcalin.
- = C'est également un indicateur d'oxydo-réduction.
La pyocyanine oxydée donne naissance à un pigment jaune, la pyoxanthose, en milieu réducteur elle se transforme en leucodérivé incolore.
- = En 1930, WREDE a établi la formule chimique de la pyocyanine.
C'est un dérivé de la phénazine, il peut être synthétisé par *Pseudomonas aeruginosa* à partir d'acide lactique et de sels.
- = Ce pigment a un rôle dans la biologie du germe; il intervient comme transporteur d'hydrogène dans le métabolisme respiratoire.

= Sa mise en évidence est facilitée par culture en milieu bien aéré, contenant du glycérol, de la peptone et pauvre en sels minéraux. Le milieu A de KING réalise ces conditions.

2°/ La PYOVERDINE ou fluorescine.

= C'est un pigment vert, fluorescent.
= Pigment hydrosoluble, il est également soluble dans l'acide acétique, mais il est insoluble dans le chloroforme.
= Comme la pyocyanine, la pyoverdine est un indicateur d'oxydo-réduction et de Ph.
En milieu acide la pyoverdine est incolore et non fluorescente.
Alors qu'en milieu alcalin ou neutre, elle est jaune et fluorescente.
Par oxydation elle se transforme en pyorubine de couleur brun-rouge.

3°/ Le MELANOGENE.

C'est un pigment brun-noir.
Il est exclusivement produit que par quelques rares souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

4°/ L'ERYTHROGENE.

C'est un pigment rouge.

Pour ces pigments, il faut noter que:

- seule la pyocyanine est caractéristique de l'espèce *aeruginosa*.
- la pyoverdine peut être produite par des *Pseudomonas*

en règle non pathogènes pour l'homme, comme
Pseudomonas fluorescens et *Pseudomonas putida*.

Il est donc essentiel pour le diagnostic biologique
de mettre en évidence la pyocyanine, souvent
masquée dans les cultures par la pyoverdine.
L'addition à la culture d'un peu de chloroforme
permet d'isoler la pyocyanine. Ce pigment se dissout
et se colore en bleu.

Mais même la production de pigments est sujette à variations.

Souvent on rencontre des germes ayant les caractères
du *Pseudomonas aeruginosa*, mais ne colorant pas les
milieux de culture.

On a alors recours à certains artifices pour faire
apparaître ces pigments, si importants pour le
diagnostic.

= repiquages successifs en milieux bien aérés.

= cultures ▼ en eau peptonée.

▼ sur gélose-peptone-glycérine.

▼ sur milieux KING qui favorisent la
production de:

: pyocyanine pour KING A.

: pyoverdine pour KING B.

Cependant, de nombreux auteurs admettent actuellement
l'existence de souches de *Pseudomonas aeruginosa* ne
produisant pas de pigment: achromogènes, même après
cultures favorisantes.

Il semble que cette perte de pigmentogénèse puisse
être le fait de l'action des antibiotiques sur ces
bacilles.

E/ Etude des divers METABOLISMES.

Cette étude complète l'identification de *Pseudomonas aeruginosa*.

1°/ Métabolisme respiratoire.

Pseudomonas aeruginosa est un germe aérobic strict.

Il possède un système enzymatique qui ne fonctionne qu'en aérobiose. C'est ainsi que sur gélose VF il ne cultive qu'à la surface. Cependant, si les milieux de culture utilisés contiennent des nitrates, le germe peut se développer en aérobiose. Il est en effet capable d'utiliser les nitrates en les réduisant jusqu'au stade d'azote gazeux.

2°/ Métabolisme glucidique.

Pour toutes les cellules, le catabolisme glucidique est la principale source d'énergie nécessaire à sa vie.

L'action de *Pseudomonas aeruginosa* sur les glucides, comme le D-arabinose, est uniquement oxydative, sans aucune fermentation.

Plusieurs enzymes lui sont nécessaires, la principale étant la cytochrome oxydase.

3°/ Métabolisme protéique et lipidique.

Ce métabolisme est extrêmement intense.

a) Le fort pouvoir protéolytique de *Pseudomonas aeruginosa* est lié à l'action de nombreuses protéases ou "ferments trypsiques".

Il entraîne la liquéfaction
de l'albumine d'oeuf coagulé,
de la gélatine et
du sérum de boeuf coagulé.

Il provoque également la coagulation puis
la lyse du lait.

Cette protéolyse importante peut expliquer
le caractère gravement nécrosant des
infections produites par *Pseudomonas aeruginosa*.

b) En milieu eau-peptonée, il n'y a pas production
d'indol.

c) La plupart des souches possèdent une uréase
dont la mise en évidence se fait sur
milieu de KRISTENSEN.

d) Enfin, *Pseudomonas aeruginosa* est dépourvu
de lysine-décarboxylase.

F/ Etude ANTIGENIQUE.

L'étude des antigènes a été faite par des méthodes de
précipitation et d'agglutination.

Elles ont révélé l'existence d'antigènes;

H = flagellaires.

O = somatiques.

Il est toujours intéressant de procéder au typage
sérologique d'une souche, surtout en cas d'épidémie.

G/ Etude de la vitalité et de la résistance.

- 1°/ *Pseudomonas aeruginosa* garde sa vitalité plusieurs mois dans les cultures sur milieux usuels à la température du laboratoire.
- 2°/ Sa culture est encore possible à quarante et un degrés. Ceci est un caractère important car seul *Pseudomonas aeruginosa* se multiplie à cette température.
- 3°/ *Pseudomonas aeruginosa* est détruit par le chauffage à cinquante huit degrés pendant une demie-heure ou à soixante degrés pendant un quart d'heure.
- 4°/ Si *Pseudomonas aeruginosa* est détruit par les antiseptiques usuels, sa résistance aux antibiotiques est très grande, c'est là sa plus redoutable caractéristique.

H/ Autres caractères.

- 1°/ En gélose molle, certaines souches de *Pseudomonas aeruginosa* produisent du SH_2 .
- 2°/ A côté des enzymes protéolytiques existent
une lipase.
une lécithinase.
- 3°/ In vitro, on a mis en évidence l'existence d'une hémolysine.

Cette hémolysine est active sur les globules rouges de mammifères.

4°/ La présence d'hémolysine, de lécithinase, de lipase, de protéases a permis d'étudier le pouvoir pathogène expérimental de *Pseudomonas aeruginosa*.

Au total, les caractères biologiques de *Pseudomonas aeruginosa* sont importants à connaître, car c'est sur eux que repose le diagnostic bactériologique.

Les essentiels sont:

- bacille gram négatif,
- bacille mobile grâce à la présence d'un cil,
- germe aérobic stricte. Il peut cependant se multiplier dans une gélose anaérobic à condition qu'elle contienne des nitrates,
- germe très résistant; possibilité de le cultiver à des températures extrêmes: de quatre à quarante deux degrés,
- présence d'une oxydase et d'une uréase,
- production d pigments dans le milieu.

Deuxième partie du deuxième chapitre.

Fractionnement de *Pseudomonas aeruginosa*.

Rôle de ces fractions dans l'action pathogène
de ce germe.

HOMMA et coll ont, en 1958, mis en évidence une endotoxine dans l'autolysat de cultures de *Pseudomonas aeruginosa*.

Celle-ci est responsable de son pouvoir pathogène.

Cependant, comme ELROD & BRAUN l'ont démontré, la cellule de *Pseudomonas aeruginosa* est relativement peu toxique, en effet, l'administration d'un grand nombre de bactéries tuées n'aboutit pas au tableau obtenu par l'injection d'organismes vivants.

Nous pensons intéressant de résumer les travaux de LIU, P.V. qui a montré la possibilité d'extraire une substance extra-cellulaire, hémolytique et toxique.

I. Technique de fractionnement; production des différentes fractions.
voir la figure I.

LIU cultive deux souches de *Pseudomonas aeruginosa* sur cellophane placée sur une gélose Difco enrichie avec du glucose à un pour cent.

Il met le tout à incuber en milieu aérobie pendant vingt quatre heures à trente sept degrés.

Après ce délai il lave la culture par trois millilitres d'eau distillée.

Puis il sépare la feuille de cellophane de la gélose sous-jacente.

A/ La Géluse.

Elle contient les fractions diffusibles des cultures de *Pseudomonas aeruginosa*.

Elle est traitée successivement par l'acide chlorhydrique et la soude puis par l'eau distillée.

On obtient, par le chloroforme, l'extraction de la fraction F1a ou PYOCYANINE.

La fraction non extractible est désignée F1b.

B/ Les Cultures sur cellophane sont détachées par l'eau distillée.

La suspension obtenue est centrifugée à quatre mille tours par minute; on obtient alors deux parties: le surnageant et le culot.

1°/ Le SURNAGEANT.

Il est stérilisé par du merthiolate, après concentration sous vide il est dilué et dialysé.

Ces techniques permettent la séparation d'une partie dialysable et d'une fraction non dialysée.

a) Au liquide dialysé on ajoute du chloroforme, ce qui sépare deux fractions.

= L'une non extractible: F1b.
= L'autre extractible: F1a.

cette dernière est la Pyocyanine.

b) La portion non dialysée, après avoir été additionnée d'un tampon phosphate à Ph 7,2 ,est divisée en deux parties égales.

= La première, à laquelle on ajoute de l'acide chlorydrique jusqu'à obtention d'un Ph à 3. Ce mélange est porté à ébullition pendant dix minutes puis réajusté à Ph 7,4 par de la soude. Le précipité obtenu est alors éliminé par centrifugation, le surnageant ainsi séparé est la fraction F_{II} ou Hémolysine.

= La deuxième partie est précipitée trois fois de suite par trois volumes d'ethanol, à une température de moins cinq degrés, afin d'éliminer toutes les traces d'hémolysine. Le dernier précipité obtenu est la fraction F_{III}.

2°/ Le CULOT obtenu après centrifugation des cultures primitives est remis en suspension dans de l'eau distillée, agité puis centrifugé. On obtient alors deux parties:

a) Le surnageant (2).

b) Le culot (2).

Ce culot est remis en suspension dans

de l'eau distillée puis centrifugé.

On obtient alors:

= Le surnageant.(3).

= Le culot (3).

≡ Les surnageants (2) et (3) sont
mélangés, filtrés, concentrés
sous vide puis précipités par
du glycinate de zinc que l'on
ajoute goutte à goutte tout en
maintenant un Ph constant à 8
par addition de soude.
Le précipité ainsi obtenu est
remis en suspension soit avec
de l'E.D.T.A. soit avec du
citrate de sodium.
Enfin cette suspension est
dialysée contre le tampon
citraté de ZAMENHOF (1953), ce
qui permet d'éliminer toute
trace de zinc.
On obtient alors la fraction F_{IV}.

≡ Le culot (3) est remis en suspension
dans un volume d'acide
chlorydrique égal à celui du
surnageant (3).
Après l'avoir laissé à trente
sept degrés pendant une heure,

on centrifuge cette suspension.
Cette même technique est répétée
trois fois de suite.
Le dernier culot (6) obtenu est
remis en suspension dans du
sérum physiologique:
c'est la fraction F_V.

Chacune des six (F_{Ia} , F_{Ib} , F_{II} , F_{III} , F_{IV} , F_V) fraction
est traitée afin que la quantité obtenue à partir
d'une plaque de culture soit de trois millilitres.

Séparation des fractions de P.A.

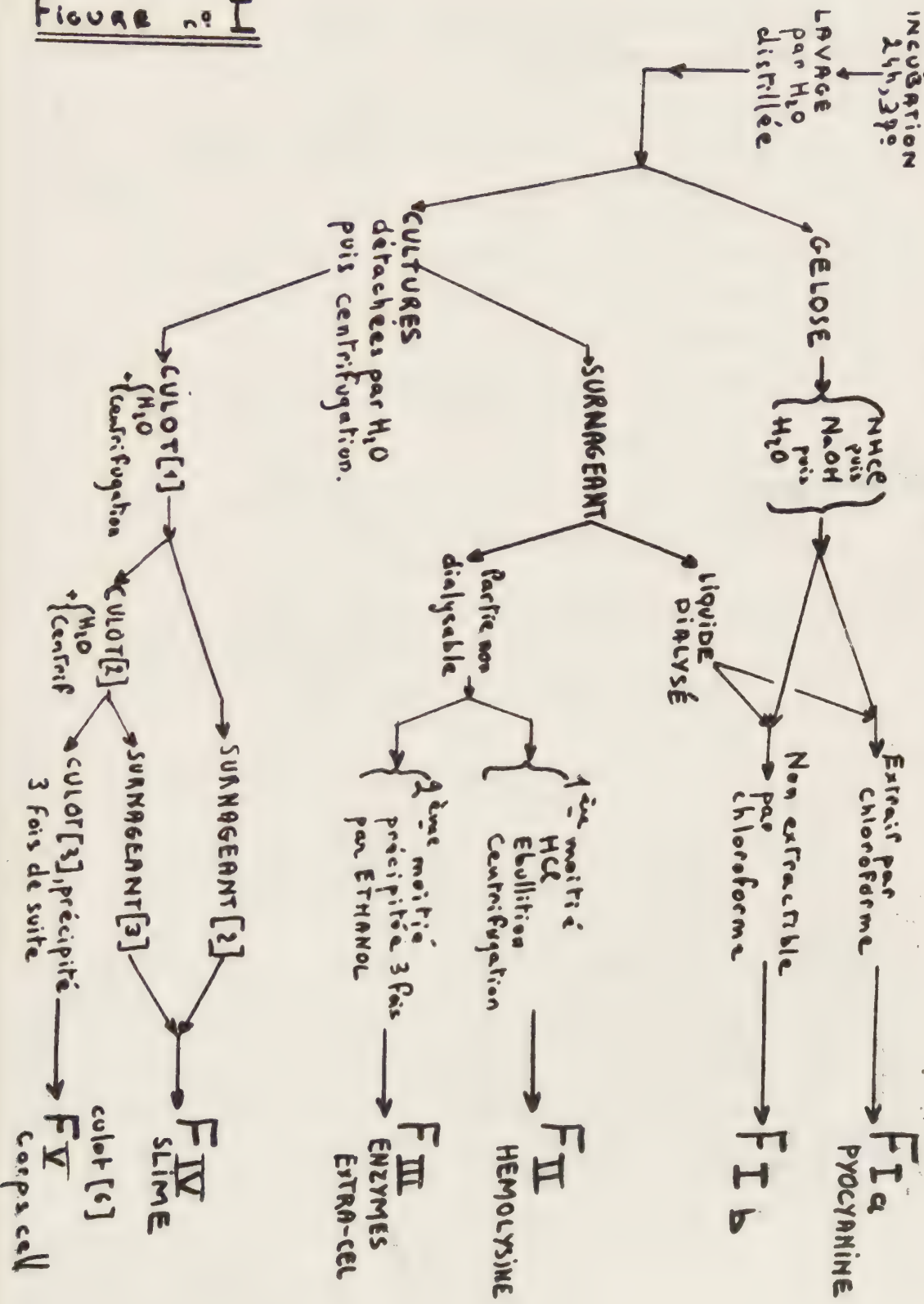


FIGURE NO I

II Etude de chacune des six fractions.

F_{Ia} - C'est une solution aqueuse de pyocyanine.

In vivo, elle ne présente pas de toxicité vis
à vis des mammifères.

F_{Ib} - C'est une solution de coloration verte contenant
toutes les substances dialysables autres que
la pyocyanine.

Elle aussi n'est pas toxique pour les mammifères.

F_{II} ou HEMOLYSINE.

C'est une solution claire de couleur ambrée
qui résiste à l'action de la chaleur.

B/ L'activité hémolytique se produit aussi
bien à vingt degrés qu'à trente sept degrés.
Cette activité n'est pas inhibée par
l'E.D.T.A.
Elle est instantanée sur les érythrocytes.

C/ HIRSCH et AHRENS (1958) ont montré que cette
activité hémolytique était due à un
monoglycéride.

C'est par l'action de l'acétone, sur la
totalité de F_{II}, puis passage sur colonne
de silice qu'ils séparent deux éléments:

1°/ Un monoglycéride, responsable de l'activité
hémolytique mais dépourvu d'action
toxique en l'absence du reste de
la molécule.

2°/ Une fraction lipidique, non antigénique
mais responsable de la toxicité.

F_{III}

A/ C'est une solution marron-sale contenant les
enzymes extra cellulaires: Lécithinase.
Protéase.
Lipase.

B/ L'activité hémolytique de cette fraction est
lente. Elle ne se produit pas à vingt degrés
mais apparaît lentement à trente sept degrés.
Elle semble liée à un système enzymatique:
la Lécithinase.
Deux arguments sont en faveur de cette
supposition:
1°/ L'inhibition par l'E.D.T.A.
2°/ La destruction par ébullition.

C/ Cette fraction est extrêmement toxique comme les
deux expériences suivantes le montrent.

- 1°/ Chez un lapin, on pratique sur le dos
une injection intra-dermique.
a) Immédiatement on observe l'apparition
au niveau de l'innoculation,
d'une lésion hémorragique.
b) Deux heures après, l'épithélium
est totalement détruit,
laissant place à une ulcération.

- c) Au bout de vingt quatre heures, il n'existe plus qu'une plaque nécrotique.

2°/ Un lot de souris reçoit, par voie intrapéritonéale la fraction F_{III} .

- a) Si l'on injecte une solution pure, le taux de mortalité est de cent pour cent dès le premier jour.
b) Si l'on injecte une solution diluée au demi, après une semaine, le taux de mortalité n'est plus que de soixante pour cent.

D/ Enfin cette fraction F_{III} possède une action antigénique.

Elle induit ainsi l'apparition d'anticorps qui sont spécifiques d'espèce.

F_{IV}

 A/ Cette fraction est dénommée par les anglo-saxon "SLIME".

Ce terme pourrait se traduire par : "couche visqueuse", mais en fait la signification est beaucoup plus imprécise.

En effet le "slime" fait partie intégrale du corps bacillaire, bien qu'il en soit distinct par son action pathogène.

D'autre part ce n'est pas une capsule.

Par simplification et afin d'éviter l'imprécision qu'entraînerait sa traduction, dans la suite de ce travail, nous conserverons le terme "slime".

B/ F_{IV} est une solution claire, légèrement teintée en jaune.

C/ Elle présente, des six fractions, la toxicité la plus forte, comme le prouve l'expérience suivante: Un lot de souris reçoit, par voie intrapéritonéale une injection de fraction F_{IV} .

1°/ Lors de l'injection d'une solution pure, dès le premier jour, le taux de mortalité est de cent pour cent.

2°/ Si l'on injecte une solution diluée au quart, le taux de mortalité est, après une semaine, de soixante dix pour cent.

D/ Le "slime" a une activité antigénique.

Il induit la formation d'anticorps qui sont spécifiques, non seulement d'espèce (comme avec F_{III}) mais aussi de type.

E/ HALLEK en 1960 a montré par ses travaux qu'entraient dans la composition du "slime" de l'acide désoxyribonucléique ou A.D.N. .

F_V

A/ Cette dernière fraction est une suspension légèrement marron, constituée par les corps cellulaires.

B/ Sa toxicité est nulle.

C/ Sa composition chimique a été particulièrement étudiée en 1967 par CLARKE, K. et Coll.

FIGURE N° II

FRACTIONS de P. aeruginosa	DILUTIONS	Nombre de Souris mortes / nombre de Souris inoculées ; au						
		1 ^{er} jour	2 ^{ème} j	3 ^{ème} j	4 ^{ème} j	5 ^{ème} j	6 ^{ème} j	7 ^{ème} j
Ia	1	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
Ib	1	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5
II	1	4/5	4/5	5/5	2/5	3/5	3/5	3/5
	1/2	4/5	4/5	2/5	1/5	1/5	1/5	1/5
III	1	5/5	4/5	2/5	2/5	3/5	3/5	3/5
	1/2	1/5	0/5	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5
IV	1	5/5	2/5	2/5	3/5	3/5	3/5	3/5
	1/2	2/5	5/5					
V	1	0/5	0/5	0/5	0/5	1/5	1/5	1/5
	1/2	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

Activité, in vivo des diverses fractions de P. aeruginosa ; mortalité des souris après injection intra-péritonéale.

D'après LIU, P.V.

III /

A/ Au terme de cette étude de chacune des six fractions, faite par LIU, P.V. et complétée par CLARKE, K. sur la composition chimique de la membrane cellulaire de *Pseudomonas aeruginosa*, il est possible de mieux saisir les mécanismes par lesquels *Pseudomonas aeruginosa* est hautement pathogène.

B/ Nous tirerons quelques conclusions de ces travaux.

1°/

- a) Il semble que le "slime" ait une action semblable à celle de la capsule du Pneumocoque. En effet il agit:
 - = d'une part en empêchant la phagocytose.
 - = d'autre part en exaltant la virulence du germe.
- b) Sa diffusion rapide dans le milieu le distingue cependant de la capsule de Pneumocoque.
- c) D'autre part, alors que l'on sait que le "slime" n'est pas intimement lié à la surface cellulaire, ils'avère que des lavages répétés à l'acide chlorydrique ne l'éliminent pas totalement.
Ceci semble prouver qu'une partie du "slime" fasse partie intégrale de la paroi cellulaire.

2°/

- a) Les anticorps induits par le "slime" provoquent l'agglutination des germes et protègent l'animal contre l'infection.

- b) La spécificité sérologique de type du "slime" est très stricte.
Les anticorps formés ne réagissent que vis à vis d'un type donné.
Ils sont sans action vis à vis d'autres souches de *Pseudomonas aeruginosa* possédant un type sérologique différent.

3°/

- a) Si le "slime" est la fraction la plus toxique, nous avons vu qu'il existe deux autres fractions responsables par leur toxicité de lésions cutanées.
L'Hémolysine ou F_{II} , entraîne un érythème une induration.
La destruction des tissus serait due aux enzymes extra-cellulaires, ou F_{III} .
b) On comprend alors que ces fractions F_{II} et F_{III} jouent un grand rôle dans la léthalité des infections par *Pseudomonas aeruginosa*.

C/ Il nous semble intéressant de relever la discordance qui existe entre:

- 1°/ L'opinion courante de ces dernières années qui considère la pyocyanine et les corps microbiens comme les fractions les plus importantes.
2°/ et les travaux de LIU, P.V. qui l'amènent à conclure que ces deux fractions n'ont qu'un

rôle minime dans la pathogénicité de
Pseudomonas aeruginosa.

Par contre il plac au tout premier plan
le "slime", fraction la plus toxique. Qui est
également un bon antigène.

Deuxième Chapitre : Troisième Partie.

Etude et Classification des souches de *Pseudomonas aeruginosa*

I Nous ne pouvons parler de *Pseudomonas aeruginosa* sans évoquer le problème de la classification des diverses souches de ce bacille.

II Cette classification est, comme pour beaucoup de bactéries,
sérologique et basée sur des phénomènes d'agglutination.
C'est la détermination des antigènes O, somatiques;
thermostables qui sert de référence.

La connaissance de cette classification a un grand
intérêt, tant pour le diagnostic bactériologique du
germe que pour l'étude épidémiologique des infections
qui, en milieu hospitalier, sont endémo-épidémiques.

A/ En 1927, HABS, I., en Allemagne établit une différenciation
de *Pseudomonas aeruginosa* en douze groupes
Chacun d'entre eux est caractérisé par un
antigène O thermostable (agglutinogène).

Ces douze types ont ultérieurement été utilisés par
divers auteurs afin d'identifier et de
comparer les sérotypes de *Pseudomonas aeruginosa*
isolés de l'homme ou de l'animal en France,
en Grande-Bretagne, en Allemagne, dans les pays
Scandinaves et en Indochine.

Ces auteurs isolèrent des types sérologiques
qui ne correspondaient à aucun de ceux
décrits par HABS, I. .Ce sont:

pour VERON, M. - O:2 b
 - O: 2 ab
 - O: 5 d
 - O: 5 cd

pour SANDVIK, O. - O: 13

pour WAHBA, A.H. - O: 14

pour WOKATISCH, R. - 13 newly listed O group.

B/ En 1961, VERDER, E. et EVANS, J., aux Etats Unis étudient trois cent vingt six souches de *Pseudomonas aeruginosa* et décrivent dix groupes sérologiques de *Pseudomonas aeruginosa* comportant treize types O différents.
La différenciation est obtenue par la mise en évidence d'antigènes précipitants.

C/ En 1965, MURASCHI, T.F. et Coll. font la corrélation entre les classifications européennes; à partir des travaux de HABS, I.
et les américaines; à partir de ceux de VERDER, E.
et EVANS, J.

MURASCHI et Coll' arrivent à ce résultat en utilisant les techniques d'agglutination et de précipitation.

Nous allons résumer ce travail.

Les recherches amenant aux conclusions représentées dans la figure III, se résument à l'extraction d'antigène O de chaque souche par des méthodes appropriées.

1°/ Isolement d'antigènes agglutinants et d'antigènes précipitants.

2°/ Par injection à l'animal de ces antigènes
préparation d'antisérums.

3°/ Etude in vitro de l'activité des anticorps ainsi obtenus.

Ils sont mis en présence de diverses souches afin d'obtenir:

= soit une agglutination.

= soit une précipitation en milieu gélatiné.

Ainsi on observe que la souche du Groupe II de
VERDER et EVANS possède les mêmes antigènes
que la souche Type 6 de HABS, et lui est donc
égale.

Les mêmes corrélations sont ainsi faites pour
chacun des Groupes et Types.

TABLE N° III

Selon MAURASCHI, A.P. Coll.

Corrélation des classifications de HABA, I. et de VERDER, E. & EVANS, J.

Lorsque l'on parle du Type de HABA,	on parle du Séro-Groupe de VERDER et EVANS.		
	Séro-Groupe	Souche	Formule Ag:O.
1	I	2.243	O: 1a; 1b, 1c.
		359	O: 1a, 1c, 1d.
		LAWSON	O: 1a, 1e.
6	II	1.369	O: 2.
11	III	2.108	O: 3.
1	IV	MILLS	O: 4.
2 SANDVIK II	V	T M	O: 5.
3	VI	5c F	O: 6.
12	VII	1.174	O: 7a, 7b.
		2.915	O: 7a, 7c.
8	VIII	T 488	O: 8.
9	IX	T 6.370	O: 9.
5	X	G 2.512	O: 10, 1a.
4	Ces trois Types de HABS ne figurent pas dans la classification selon VERDER et EVANS, types isolés en Europe et non trouvés aux USA.		
7			
10			

D/ Comme on le remarque sur la figure III, quatre souches possèdent un antigène commun.

WAHBA, A.H.; par ses travaux apporte une confirmation à ceux de VERDER et EVANS.

Il étudie les quatre souches possédant un antigène commun (1a); ce sont:

- 2.243) du Groupe I de VERDER et EVANS,
- 359) ou Type 2 de HABS.
- LAWSON)
- G 2312 du Groupe X de VERDER et EVANS,
ou du Type 5 de HABS.

Par la méthode d'OUCHTERLONY, technique de double diffusion en milieu gélifié sur plaque, WAHBA met en évidence l'apparition de lignes de précipitation lorsqu'il met en présence antigènes et antisérums de ces souches.

1°/ Dans un premier temps, les trois antigènes ;

1b correspondant à la souche 2.243,

1d correspondant à la souche 359 ,

1e correspondant à la souche LAWSON ,

sont mis en présence de sérum anti 1d .

Après vingt quatre heures, il y a une ligne de précipitation franche entre l'antigène 1d et le sérum anti 1d , ce qui est attendu.

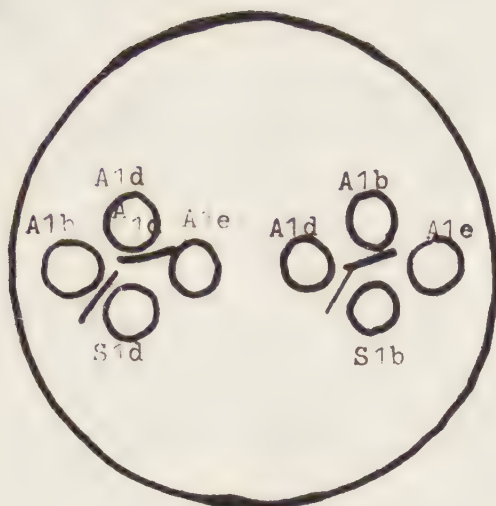
Mais il y a aussi une précipitation, plus réduite mais nette entre l'antigène 1b et le sérum anti 1d;.

(voir figure IV)

2°/ Dans un deuxième temps, WAHBA met les trois

mêmes antigènes (1b , 1d , 1e) en présence

FIGURE N° . IV

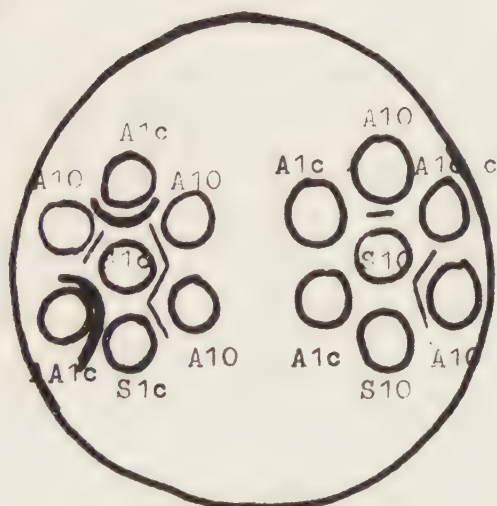


A1b Antigène de 2.243
A1d Antigène de 359
A1e Antigène de LAWSON.

S1b Antisérum de 2.243
S1d Antisérum de 359 .

Précipitation entre les souches du groupe I
de VERDER et EVANS.

FIGURE N° . V



A1c Antigène LAWSON.
A10 Antigène de G 2.312

S1c Antisérum LAWSON.
S10 Antisérum G 2.312

Réaction croisée de la souche G 2.312 avec
l'antisérum de LAWSON.

Selon MURASCHI et Coll.

d'un sérum anti 1b .

Après vingt quatre heures existe une précipitation franche entre l'antigène 1b et le sérum anti 1b ,ce qui est prévu. Comme précédemment, on constate une légère ligne de précipitation entre l'antigène 1d et le sérum anti 1b .

Il semble donc bien exister une interaction entre les deux souches 2.243 et 559.

Est-elle due à l'antigène, 1a ,commun à ces deux souches ?

°/ Dans un dernier temps, WAKABA compare les réactions antigène-antisérum des souches LAWSON et G 2.312 . Elles ont aussi un antigène commun : 1a .

Après vingt quatre heures, on constate (voir la figure V) l'existence d'une réaction croisée entre l'antigène 10 de la souche G 2.312 et l'antisérum S1c de la souche LAWSON.

Il existe en effet une réaction de précipitation entre antigène 10 et sérum anti 1c .

E/ Pour terminer cette étude, nous rapportons le bilan fait par MURASCHI et Coll'. sur la fréquence des différents sérotypes de *Pseudomonas aeruginosa* en fonction des travaux de plusieurs auteurs. Figure VI.

FRÉQUENCE des SÉROTYPES de PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Nom des Auteurs ayant effectué des recherches	Nombre souches examinées	ORIGINE des GÉOGRAPHIE	SOURCES HÔTE	Par ORDRE de FRÉQUENCE	
				Selon HABBS	Selon VERDER
HABBS 1959	70	ALLEMAGNE	HOMME	6.5.1.3.	II. X. IV. V.
SANDVIK 1960	87	PAYS SCANDINAVES	BOVINS	6.3.14.	II. V.
VERON 1961	142	FRANCE ASIE du Sud-Est	HOMME	5.6.1.8.	X. II. IV. VIII
VERDER & EVANS 1961	326	U. S. A.	HOMME + Animal	2.6.11.1.	I. II. III. IV.
WAHBA 1965	1.899	GRANDE-BRETAGNE + COMMONWEALTH.	HOMME + ANIMAL	6.2.1.5.	II. I. IV. X.

FIGURE N° VI

Selon MURRASHI et coll.

III Nous ne voulons pas conclure cette étude de la classification des souches de *Pseudomonas aeruginosa* sans évoquer les travaux effectués depuis plusieurs années pour réaliser une Lysotypie et une Pyocinotypie de *Pseudomonas aeruginosa*.

VIEU, J.F. de l'Institut Pasteur de Paris en est un des spécialiste français. Dans un récent travail, il souligne l'intérêt de ces méthodes pour l'étude de l'infection par *Pseudomonas aeruginosa*.

En effet, la lysotypie et la pyocinotypie aident au diagnostic épidémiologique en décelant l'apport récent, par exemple dans un service hospitalier, d'une souche très virulente surajoutée à une flore de *Pseudomonas aeruginosa* endémique peu pathogène. Ces techniques conduisent ainsi à la mise en évidence de l'origine de cette grave surinfection.

Ces méthodes permettent en outre, dans les services de réanimation et de brûlés, de constater la coexistence d'un grand nombre de lysotypes témoignant ainsi de la multiplicité des sources d'infection.

La lysotypie et la pyocinotypie permettent de faire la distinction entre une infection endogène et une infection exogène et peuvent ainsi permettre d'établir le degré du risque infectieux propre à certaines interventions.

Sur le plan pratique, pour pouvoir employer ces deux techniques, il est nécessaire de disposer de milieux de culture très sélectifs pour l'isolement de *Pseudomonas aeruginosa*.

Actuellement, la variété des techniques et des

souches microbiennes et virales de références utilisées constitue un obstacle qui devra être surmonté afin que l'ensemble des examens de sérologie, lysotypie et pyocynotypie puissent s'appuyer sur des bases internationalement acceptées.

IV L'association de ces trois techniques de détermination constitue la voie la plus riche pour toutes les études épidémiologiques grâce à la subdivision des sérotypes en lysotypes et en pyocynotypes.

L'étude épidémiologique de *Pseudomonas aeruginosa* est importante, ces souches virulentes sont la cause d'infections graves sous forme de véritables épidémies dans les services de réanimation et de brûlés.

Troisième Chapitre

Problèmes posés par la

PROTECTION ANTI-PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Il ressort, des deux premiers chapitres de ce travail, qu'un problème de protection générale associé à une protection anti-*Pseudomonas aeruginosa* se pose vis à vis des brûlés.

I / *Pseudomonas aeruginosa* est un microbe très répandu dans la nature.

Il est également commensal habituel de la peau, de l'intestin et pour certains auteurs de la salive de l'homme.

A/

Actuellement son emprise pathologique s'étend.

On assiste à une nette recrudescence des infections à *Pseudomonas aeruginosa*, surtout infections généralisées de plus en plus graves et de plus en plus résistantes aux thérapeutiques actuellement en nos mains.

Deux ordres de faits semblent être responsables de cette évolution:

1° / L'utilisation de plus en plus grande des antibiotiques

ce qui sélectionne les espèces microbiennes les plus résistantes; *Pseudomonas aeruginosa* en tête.

Il est regrettable que des antibiotiques majeurs soient utilisés pour des affections bénignes; en outre, la prescription d'un seul antibiotique est responsable de la sélection de souches résistantes.

2°/La multiplication des investigations instrumentales

de la chirurgie et de la médecine moderne sont
autant de portes d'entrée pour *Pseudomonas*
aeruginosa, saprophyte des téguments et résistant
à l'antibiothérapie banale dite "de couverture"
trop souvent insuffisante, inadaptée et inutile.

B/

Ainsi ce germe, armé: de puissants ferments protéolytiques,
d'une endotoxine et
d'une capacité de résistance toute
spéciale aux antibiotiques, détermine-t-il, à la faveur
de circonstances favorisantes, des infections générales
particulièrement graves, actuellement de plus en plus
fréquentes.

C/

Pour lutter contre ce fléau, des chercheurs ont pensé
utiliser les réactions immunitaires de l'organisme.
Dans sa défense contre les germes infectieux l'organisme
humain présente deux types de défenses par réactions
immunitaires.

II/

Nous allons faire un bref rappel de cette immunité anti-infectieuse acquise.

A/Le terme d'immunité a d'abord été appliqué seulement à l'acquisition de nouvelles propriétés de défense à la suite d'une infection.

Selon le type d'infection, la qualité de l'immunité est variable.

On distingue:

1°/ Les infections qui, après disparition de l'agent infectieux, sont suivies d'une immunité vraie, post-infectieuse.

2°/ Les infections où la disparition de l'agent infectieux amène la perte de l'immunité.

3°/ Les infections où la présence de l'agent infectieux s'oppose à une nouvelle infection.

On parle alors d'immunité relative, appelée par SERGENT, E. prémunition.

Si la première infection est due à un germe peu virulent, cette prémunition protège l'organisme humain contre l'infection par un germe plus virulent (cette immunité est réalisée par le B.C.G.).

B/ L'immunité anti- infectieuse acquise peut l'être d'une façon spontanée ou d'une façon artificielle.

1°/ L'immunité acquise spontanée.

Elle fait suite à une infection naturelle.

C'est le cas par exemple de la rougeole, de la coqueluche.

2°/L'immunité acquise artificielle,

Elle est provoquée et se développe à la suite d'une mesure préventive.

Elle peut être de deux types: passive ou active.

a) L'immunité artificielle passive.

C'est la sérothérapie.

= Elle est due au transfert d'anticorps spécifiquement actifs contenus dans le sérum d'un sujet ou d'un animal immunisé contre le germe vis à vis duquel on désire assurer la protection ou contre ses toxines.

= Son action est de courte durée, elle ne persiste que pendant le temps où subsistent les anticorps ainsi transférés.

= Mais son action est immédiatement efficace.

b) L'immunité artificielle active.

C'est la vaccination.

= Elle fait suite à l'administration d'un germe
 = soit peu pathogène,
 = soit à virulence atténuée,
 = soit tué.

Ou a l'administration de l'antigène correspondant.

= Par définition; l'antigène est une substance:
 = étrangère à l'organisme,
 = de nature le plus souvent protéique,
 = ayant un poids moléculaire élevé,
 = capable de susciter la formation d'un anticorps correspondant, rigoureusement spécifique.

= Les anticorps sont des globulines, molécules de protéines.

Parmi les immunoglobulines on distingue:

- les gamma globulines (Ig G)
- les bêta 2A globulines (Ig A)
- les bêta 2M globulines (Ig M)

c) = Antigènes et anticorps ont une affinité particulière et réagissent ensemble in vitro et in vivo.

= In vitro, leur union, liée à l'étroite complémentarité des surfaces caractéristiques des deux molécules, s'exteriorise par des phénomènes visibles variés:

- réaction de précipitation,
- réaction de lyse,
- réaction d'agglutination.

d) Les lieux de formation des anticorps en réponse à une stimulation antigénique sont:

- = Après une injection intra-veineuse; la rate.
- = Après une injection sous-cutanée; les ganglions correspondant au territoire de l'injection.
- = Après toutes injections locales; au point d'injection lorsque s'y développe un granulome inflammatoire.
- = Après une injection intra-péritonéale; formation par les cellules du liquide péritonéal et les cellules infiltrant l'épiploon.

Dans ces structures élaborant les anticorps, plasmocytes, lymphocytes et macrophages sont responsables de la synthèse de ces anticorps.

III

Comme nous l'avons précédemment rapporté, LIU, P.V. a montré que *Pseudomonas aeruginosa* possède, grâce à ses fractions F_{III} et F_{IV} un pouvoir antigénique marqué.

A sa suite, diverses équipes de recherche essayent de mettre au point des sérums hyperimmunisés et des vaccins anti-*Pseudomonas aeruginosa*.

IV

L'étude, des publications, que nous avons faite nous a montré que les recherches se font dans deux directions.

A/ En chirurgie.

Pour protéger les brûlés contre les complications locales et les septicémies dues à *Pseudomonas aeruginosa*.

Ce sera l'objet du quatrième chapitre de notre travail.

B/ En Gynécologie-Obstétrique.

Pour protéger les femmes des septicémies et infections rebelles à *Pseudomonas aeruginosa* du post-partum et surtout du post-abortion.

Madame DURIEUX, R. fait actuellement en France des recherches dans ce domaine. Nous pensons intéressant d'en faire un bref exposé.

1°/Elle met au point un vaccin anti-*Pseudomonas aeruginosa* pouvant être administré à la femme enceinte et qui permettrait d'éviter les avortements répétés et la contamination périnatale de l'enfant par ce germe.

2°/Son étude a d'abord porté sur des cobayes femelles gestantes à qui elle injecte, à des termes variables, par voie intra-péritonéale des souches de *Pseudomonas aeruginosa* de sérotypes divers. Les résultats se sont avérés intéressants:

a) Les animaux non vaccinés ont avorté dans les seize heures qui ont suivi l'infestation. La plupart des mères sont mortes peu de temps après.

b) Chez les bêtes vaccinées, la grossesse a évolué normalement jusqu'au terme. Les mères, bien portantes, ont donné naissance à des petits normaux et non contaminés.

3°/En 1967, l'auteur pratique une tentative clinique sur une femme porteuse, dans sa gorge, depuis 1965 d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* type 0:10. A cette époque elle avait avorté au terme de quatre mois et demi; placenta et foetus étaient envahis par le germe.

Après l'échec de multiples traitements, pour protéger une prochaine gestation, Madame DURIEUX prépare un auto-vaccin.

Dix huit injections sont pratiquées en deux mois. En février, soit cinq mois après la fin de la vaccination, débute une grossesse.

En juin, au terme de cinq mois, on constate que le taux d'anticorps agglutinants s'est abaissé au un centième alors que neuf mois plutôt, après la vaccination, il était de un quatrecentième.

On pratique, en juillet, une injection de rappel.

Deux mois après, le taux d'anticorps agglutinants est de nouveau positif au un quatrecentième. En octobre 1968, à terme, toujours porteuse de *Pseudomonas aeruginosa* pathogènes, cette femme accouche normalement d'un enfant indemne de toute contamination.

4°/Ces diverses recherches sont fort encourageantes.

Madame DURIEUX en tire diverses remarques:

- a) Il n'y a pas de protection croisée entre les différents types sérologiques; la protection est spécifique du type. Le taux d'anticorps agglutinants après vaccination par un vaccin d'un type donné est nul pour toutes les souches de type sérologique différent. Il s'élève jusqu'au un quatrecentième pour les souches de même type. Il semble qu'un taux de un cent soixantième puisse être protecteur pendant quelques mois.

- b) L'exaltation de la virulence des souches des divers types sérologiques n'est pas liée au sexe, mais est liée à l'état de gestation et est inhibée par la vaccination.

- c) Les anticorps protecteurs traversent le placenta chez le cobaye et persistent à un taux significatif, de un cent soixantième, chez les nouveaux nés pendant trois semaines.

5°/Actuellement madame DURIEUX complète cette étude en mettant au point un vaccin polyvalent.

Il permettrait d'assurer une protection vis à vis de plusieurs souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

Elle effectue ces travaux sur des souris.

Si elle les infeste avec plusieurs souches de *Pseudomonas aeruginosa*, elle constate dans tous les cas que:

a) Celles qui n'étaient pas vaccinées sont mortes à cent pour cent.

b) Pour celles qui ont été vaccinées, les résultats bien que variables, montrent cependant toujours une mortalité inférieure à vingt pour cent.

Résultat encourageant, mais le problème n'est pas résolu car, si la même expérience est effectuée avec des souris gravides, beaucoup avortent ou mettent au monde des petits infectés.

V

Tout le début de notre travail essaye de montrer à quel point le vaccin et le sérum hyperimmunisé anti-*Pseudomonas aeruginosa* sont attendus.

L'étude que nous allons faire laisse espérer une transformation dans la thérapeutique des infections rebelles et graves à *Pseudomonas aeruginosa* contre lesquelles nous sommes désarmés. Cette étude, non exhaustive, va essayer de faire le bilan des recherches des équipes les plus fréquemment rencontrées dans la littérature internationale, en fait presque exclusivement de langue anglaise.

Quatrième Chapitre

BILAN des RECHERCHES actuelles sur
les VACCINS et
les SERUMS HYPERIMMUNISES

BILAN des RECHERCHES sur VACCINS et
SERUMS HYPERIMMUNISES

Avant d'entreprendre l'étude des travaux de chaque équipe, nous ferons un bref rappel historique.

- En 1957

ROSENTHAL, S.M./MILLICAN, R.C./RUST, J.D. montrent qu'une infestation par *Pseudomonas aeruginosa*, injectés par voie intra péritonéale vingt quatre heures après avoir ébouillanté les souris, double la mortalité des animaux.

- En 1960

LIEDBERG, C.F. fait la même constatation avec les cobayes.

- En 1961

LIEDBERG, C.F. observe qu'après brûlure, le nombre et l'activité de phagocytose des monocytes diminuent.

- En 1963

BALCH, H.H. fait la même observation, mais au sujet des éléments

3°/Après brûlure, les animaux sont séchés puis replacés dans leur cage.

Ils peuvent, à volonté, y boire et s'y nourrir d'aliments pour animaux de laboratoire "Purina" (Purina Laboratory Chow).

4°/On observe après une brûlure de trente trois pour cent les taux de mortalité spontanée suivants:

- a) cinq à vingt pour cent, une semaine après brûlure.
- b) quarante à cinquante pour cent deux semaines après .
- c) quarante cinq à soixante dix pour cent trois semaines après brûlure.

lympho-plasmocytaires.

La diminution de ces éléments, responsables de la synthèse des anticorps, explique la grande sensibilité des souris à l'infestation par *Pseudomonas aeruginosa* après brûlure.

Cette sensibilité est maximum le troisième et le quatrième jour après cette agression.

En effet, si on infeste des souris par une même souche virulente cinq jours après avoir provoqué une brûlure, on constate une plus grande résistance des animaux. La sensibilité particulière observée trois jours après brûlure a alors disparu.

Après ce rappel, nous exposons la technique utilisée par tous les auteurs pour provoquer des brûlures chez la souris : technique de ROSENTHAL, S.M.
1°/Les souris utilisées pèsent de dix huit à vingt grammes.

2°/Après les avoir anesthésiées à l'éther, la brûlure est produite par immersion dans l'eau à soixante dix degrés C pendant cinq secondes.

La brûlure obtenue correspond à environ trente pour cent de la surface corporelle quand les souris sont plongées jusqu'au niveau de la crête iliaque, par la queue.

Dans certains protocoles expérimentaux, seule la queue est immergée; la brûlure est alors évaluée à six pour cent de la surface corporelle.

Quatrième Chapitre , Première Etude.

Travaux de MARKLEY,K. et SMALLMAN,E.

Nous envisagerons successivement:

- Les méthodes et le matériel utilisés par ces auteurs pour provoquer les infestations.
- Les vaccins qu'ils ont étudiés.
- Les résultats obtenus selon le moment où ils administrent le vaccin;avant ou après brûlure.

I Matériel et Méthodes.

A/Les animaux servant à leurs recherches sont des souris albinos, femelles de dix huit à vingt grammes.

B/Les brûlures.

Les auteurs en ont pratiqués deux types.

1°/Peu étendues, localisées au niveau de la queue et pour lesquelles on n'observe aucune mortalité en trois semaines.

2°/Étendues, plus importantes: trente pour cent.

Le taux de mortalité en trois semaines est alors de treize pour cent.

C/Mode d'infestation.

Les souris sont infestées localement par une suspension de germes contenant trois souches de *Pseudomonas aeruginosa* dont le type est : 180 (ATCC 19 660)

O:8

O:4 (MILIS)

L'infestation se fait par immersion de la brûlure dans la suspension.

Puis la souris est replacée dans sa cage.

II Vaccins étudiés.

La préparation est faite à partir de dix souches de *Pseudomonas aeruginosa* de types sérologiques différents et à partir d'une souche d'*Eschérichia coli* et d'une souche de *Protéus mirabilis*. Les cultures de ces différentes souches sont traitées jusqu'à obtention de deux vaccins: - un "vaccin-surnageant": filtrat.
- un "vaccin-cellules": suspension.

III RESULTATS

Deux cas sont à envisager selon le moment de la vaccination par rapport à celui de la brûlure.

≠= Vaccins administrés AVANT brûlure. Voir la figure VII.

Les résultats varient suivant:

- . L'importance de la brûlure.
- . La date à laquelle est faite l'injection du vaccin.

A/ Brûlure de la QUEUE seule.

1°/Vaccination des souris trois jours et deux jours avant de

provoquer la brûlure. Puis infestation, par *Pseudomonas aeruginosa* souche de type 180, cinq heures après brûlure. On observe des résultats différents suivant le vaccin utilisé.

a) Avec le "vaccin-cellules" .A la dose de 0,1 millilitre injecté en sous-cutané.

- + Chez les souris témoins, non vaccinées, il y a
.soixante treize pour cent de morts sept jours après l'infestation.
.quatre vingt deux pour cent de morts quatorze et vingt et un jours après l'infestation.

- + Chez les souris ayant reçu le vaccin spécifique anti-180, on observe: trois pour cent de morts sept, quatorze et vingt et un jours après l'infestation.

- + Chez les souris ayant reçu un vaccin non spécifique,
correspondant à d'autres souches, on observe:

quinze à cinquante trois pour cent de morts
vingt et un jours après l'infestation.

Cette protection quoique réduite est cependant
statistiquement significative.

- + Chez les souris ayant reçu un vaccin anti-coli ou
anti-protéus, on observe:

quarante à quarante huit pour cent de morts vingt
et un jours après l'infestation.

Protection moindre, mais elle est encore statistiquement
significative.

b) Avec le "vaccin-surnageant", les mêmes expériences selon
le même protocole sont répétées.

- + Chez le lot témoin: soixante et onze pour cent de
morts au vingt et unième jour.

- + Chez les souris ayant reçu le vaccin spécifique:
quatre pour cent de morts au vingt et unième jour.

- + Chez les souris ayant reçu le vaccin non spécifique
huit à quarante trois pour cents de morts au
vingt et unième jour.

- + Chez les souris ayant reçu un vaccin anti-coli ou
anti-Protéus: au vingt et unième jour, cinquante
pour cent de morts.

c) Nous remarquons que le "vaccin-surnageant" entraîne
une mortalité légèrement inférieure à celle observée

avec le "vaccin-cellules". Mais cette différence n'est pas suffisante pour être statistiquement significative.

2°/Vaccination des souris seize,treize,dix et sept jours avant de provoquer la brûlure.

Toujours infestation par *Pseudomonas aeruginosa* cinq heures après brûlure.

Dans ce cas,seul le vaccin spécifique anti-180 protège les souris contre l'infection par cette souche;type 180 de *Pseudomonas aeruginosa*.

/ Brûlure VERDER.

Dans ces cas,les résultats sont fonction de la souche de *Pseudomonas aeruginosa* utilisée pour l'infestation.

La vaccination est faite trois et deux jours avant de provoquer la brûlure.

Cinq jours après,la surface brûlée est plongée dans une suspension de germes.

1°/Infestation par une souche très virulente,telle la souche type 180.

L'injection;même de vaccin spécifique,"cellules" ou "surnageant",ne protège pas les souris.

2°/Infestation par une souche peu virulente,telle la souche MILLS ,qui correspond au Groupe IV de VERDER et EVANS ou au Type 1 de HABS.

On constate des résultats superposables à ceux observés lors de la brûlure de la queue.

Protection significative obtenue tant avec les vaccins spécifiques qu'avec les non spécifiques.

a) "Vaccin-cellules". Dose de 0,1 millilitre par voie sous-cutanée.

+ Lot témoin; Le taux de mortalité vingt et un jours après infestation par la souche MILLS est de quatre vingt treize pour cent.

+ Chez souris ayant reçu vaccin anti-MILLS, le taux de mortalité est de vingt cinq pour cent.

+ Chez les souris ayant reçu un vaccin non spécifique le taux de mortalité est de quarante trois pour cent, toujours au vingt et unième jour.

b) "Vaccin-surnageant". Même protocole expérimental.

+ Lot témoin; au vingt et unième jour, soixante cinq pour cent de mortalité.

+ Chez souris ayant reçu le vaccin anti-MILLS; mortalité de vingt trois pour cent.

+ Chez souris ayant reçu le vaccin anti-180; la mortalité est de trente huit pour cent.

Dans les deux cas, "vaccin-surnageant" et "vaccin-cellules", le vaccin spécifique donne le taux de mortalité le plus bas.

Mais le vaccin non spécifique apporte lui aussi une protection, qui est statistiquement significative.

PROTECTION de SOURIS BRÛLÉES poi INFESTÉES par P.aeruginosa 180

VACCINS ADMINISTRÉS AVANT BRÛLURE

BRÛLURE localisée à la QUEUE

BRÛLURE ÉTENDUE

Taux de mortalité 21 Jour après l'INFESTATION

Vaccin CELLULES	Vaccination AVANT BRÛLURE 2 ^e et 3 ^e jour		Vaccination 3 et 4 jours avant brûlure Infest. Pa.180 Infest. Mills (pou vie)	
	Taux de mortalité		Taux de mortalité	
Témoin	82%		23%	
Vaccin Spécifique	3%		25%	
anti P.aeruginosa	15 à 53%		43%	
Vac. NON SPÉCIFI-	40 à 48%			
anti Coli ou Proteus				
VACCIN SURNAGÉANT				
Témoin	71%		65%	
Vac. Spécifique	4%		23%	
anti P.aeruginosa	8 à 43%		38%	
Vac. NON SPÉCIFI-	45 à 50%			
anti Coli ou Proteus				

FIGURE VII

== Vaccins administrés APRES brûlure.

Voir la figure VIII.

Là aussi les résultats sont fonction:

- . de l'importance de la brûlure.
- . du moment au quel est faite l'injection de vaccin.

A/ Brûlure localisée à la QUEUE seule.

Immédiatement après brûlure, ou cinq heures après, la souris reçoit le vaccin, "vaccin-cellules" ou "vaccin-surnageant".

L'infestation est faite à l'aide de la souche type 180.

On constate des résultats différents selon le moment de l'infestation par rapport à celui de la brûlure.

1°/Administration de vaccin spécifique anti-180.

a) Injection faite immédiatement après brûlure.

+ Infestation faite cinq heures après brûlure.

Il n'y a pas de protection significative par le vaccin:

- . Lot témoin; quatre vingt quinze pour cent de mortalité au vingt et unième jour.
- . Animaux vaccinés; quatre vingt cinq pour cent de mortalité au vingt et unième jour.

+ Infestation faite vingt quatre heures après brûlure.

On observe une nette diminution du taux de mortalité:

- . Lot témoin; quatre vingt pour cent au vingt et unième jour.
- . Animaux vaccinés ; trente cinq pour cent au vingt et unième jour.

+ Infestation faite quarante huit heures après la brûlure ,

la protection est encore significative.

- . Lot témoin : soixante pour cent de mortalité au
.....
vingt et unième jour.
- . Animaux vaccinés : dix pour cent de mortalité au
.....
vingt et unième jour.

+ Si l'infestation est faite soixante douze heures après
brûlure, le taux de mortalité des témoins est trop
faible pour en déduire une efficacité au vaccin.

- . Lot témoin : quinze pour cent au vingt et unième jour.
.....
- . Animaux vaccinés : quinze pour cent de mortalité au
.....
vingt et unième jour.

b) Injection faite cinq heures après brûlure.

+ Si l'infestation est faite cinq heures après brûlure, au
vingt et unième jour, la mortalité est:

- . Pour les témoins de quatre vingt quinze pour cent.
.....
- . Pour les vaccinés de quatre vingt dix pour cent.
.....

+ Si l'infestation est faite vingt quatre heures après
brûlure, on observe au vingt et unième jour une
mortalité:

- . Pour les témoins de quatre vingt pour cent.
.....
- . Pour les vaccinés de quarante cinq pour cent.
.....

+ Si l'infestation est faite quarante huit heures après
brûlure, au vingt et unième jour on observe une mortalité;

- . Pour le lot témoin de soixante pour cent.
.....
- . Pour les vaccinés de dix pour cent.
.....

+ Si l'infestation est faite soixante douze heures après brûlure, comme précédemment aucune interprétation des résultats n'est licite.

Au total, on constate que l'administration d'un vaccin spécifique donne une protection comparable, qu'il soit injecté immédiatement ou cinq heures après brûlure. La protection la meilleure est obtenue lorsque l'infestation est pratiquée quarante huit heures après brûlure.

2°/Administration de vaccins non spécifiques.

Les taux de mortalité observés vingt et un jours après l'infestation montrent que la protection est beaucoup moins efficace.

a) Différents vaccins sont utilisés.

Ils sont préparés à partir de diverses souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

- 2.915 (O: 7a , 7c) Groupe VII de VERDER et EVANS.

Type 12 de HABS.

- LAWSON (O: 1a , 1e) Groupe I de VERDER et EVANS.

ou Type 2 de HABS.

- 1 M (O: 5) Groupe V de VERDER et EVANS.

ou Type 13 de HABS (SANDVIK II).

également un vaccin à partir de *Escherichia coli* est préparé.

b) Les résultats obtenus avec les trois vaccins anti-

Pseudomonas aeruginosa sont semblables.

Les taux de mortalité les plus faibles sont observés avec la souche 2.915 :

+ Infestation faite vingt quatre heures après brûlure,

1^{re} mortalité au vingt et unième jour est:

. Dans le lot témoin ; soixante treize pour cent.

Chez les animaux vaccinés immédiatement ; soixante
cinq pour cent.

. Chez les animaux vaccinés cinq heures après brûlure ;
soixante trois pour cent.

+ Infestation faite quarante huit heures après brûlure, la
mortalité au vingt et unième jour est:

. Dans le lot témoin ; trente cinq pour cent.

. Chez les animaux vaccinés immédiatement ; dix huit
pour cent.

. Chez les animaux vaccinés cinq heures après brûlure ;
vingt pour cent.

+ Infestation faite soixante douze heures après brûlure ;
la mortalité au vingt et unième jour est:

. Dans le lot témoin ; dix pour cent.

. Chez les animaux vaccinés immédiatement ; dix pour cent.

. Chez les animaux vaccinés cinq heures après brûlure ;
cinq pour cent.

c) Le vaccin anti-Escherichia coli ne donne aucune protection
significative, quelque soit l'heure à laquelle est faite
l'infestation par rapport au moment de la brûlure.

3°/ Ainsi, nous voyons que lors de brûlures peu étendues, on obtient
une bonne protection avec le vaccin spécifique.
Avec les vaccins non spécifiques, la protection est moins bonne
mais cependant encore significative s'ils sont préparés à
partir de Pseudomonas aeruginosa.

R/Préliminaire

Dans le cas de brûlures étendues, le vaccin, même spécifique est beaucoup moins efficace que lors de brûlures limitées.

1°/Si l'infestation est faite cinq, vingt quatre, quarante huit ou soixante douze heures après brûlure, le vaccin spécifique ne donne aucune diminution significative du taux de mortalité au vingt et unième jour.

2°/Cependant, si l'infestation est provoquée quatre jours, quatre vingt seize heures, après brûlure, on constate alors que la vaccination entraîne une chute de la mortalité de quatre vingt quinze à soixante deux pour cent, ce qui est une modification statistiquement significative.

Quelque soit le mode de brûlure ou d'infestation, tous les animaux survivants au vingt et unième jour sont sacrifiés, autopsiés afin d'étudier les lésions rénales à type d'abcès rencontrés fréquemment après ce genre d'expériences.

On constate une nette diminution du pourcentage d'abcès rénaux si les animaux

- ont eu une brûlure limitée, queue seule.
- ont reçu un vaccin spécifique après brûlure.
- si l'infestation a été faite vingt quatre, quarante huit ou soixante douze heures après brûlure.

Par contre si les animaux ont reçu un vaccin non spécifique, la diminution du taux des lésions n'est observée que si l'infestation a été provoquée quatre huit ou soixante douze heures après brûlure.

PROTECTION des SOURIS BRÛLÉES puis VACCINÉES et INFESTÉES par Pseudomonas aeruginosa 180.

VACCIN administré après brûlure	BRÛLURE LOCALISÉE queue					BRÛLURE ÉTENDUE: 30%				
	Taux de MORTALITÉ en % au 21 ^e j après Infestation									
Vaccin SPECIFIQUE anti P.a. après brûlure	Temps écoulé entre la brûlure et l'infestation									
IMMÉDIATEMENT	5 ^H	24 ^H	48 ^H	72 ^H	5 ^H	24 ^H	48 ^H	72 ^H	96 ^H	95
APRÈS 5 ^H	90	45	10	15	AUCUNE PROTECTION					62
Lot Témoin	95	80	60	15						
V. NON SPÉCIFIQUE										
① Anti Pa. 4 ^e Souche 2.915										
IMMÉDIAT		65	18	20						
APRÈS 5 ^H		63	20	5						
Lot Témoin		73	35	10						
② Anti Coli. Protéus	AUCUNE PROTECTION									

FIGURE VIII

IV CONCLUSIONS

A/Les travaux de MARKLEY,K. et de SMALLMAN,E. montrent que l'immunisation active est efficace dans la lutte prophylactique contre les infections par Pseudomonas aeruginosa chez les souris brûlées.

Nous remarquons que l'efficacité de la vaccination est fonction:

- 1° de la sévérité de la brûlure.
- 2° de la spécificité du vaccin.
- 3° de la virulence de la souche infestante utilisée.
- 4° du temps écoulé entre brûlure et infestation.

En effet la meilleure protection est assurée lorsque:

- 1° le vaccin est spécifique.
- 2° la brûlure est localisée.
- 3° la souche infestante peu virulente et administrée quarante huit heures après brûlure.

B/A la suite de leurs travaux, les auteurs posent une question:
quel est le mode d'action de cette immunisation vaccinale?
Y a-t-il;formation d'anticorps?

- .stimulation du système réticulo endothélial ?
- .action de facteurs encore inconnus ?

Ces trois hypothèses ont des arguments pour et des arguments qui sont contre.

1°/En faveur d'une protection par anticorps,on relève :

a)La protection par vaccin spécifique est meilleure que celle obtenue par vaccins non spécifiques.

b)Lors de brûlures graves,la protection ne se manifeste que si l'infestation par Pseudomonas aeruginosa

est faite quatre jours après brûlure: période à laquelle le taux d'anticorps circulants est maximum.

2°/En faveur d'une action protectrice non spécifique par le système réticulo endothélial, on note :

a)

+ la vaccination, effectuée immédiatement après brûlure, protège les souris brûlées de façon réduite uniquement si l'infestation est faite dans les vingt quatre heures qui suivent la brûlure.

+ Ceci explique l'action du système réticulo endothélial car dans cette période des vingt quatre premières heures, le taux des anticorps est trop bas pour entraîner une protection efficace.

b)

+ Lors de brûlures localisées à la queue, on constate que les vaccins anti-coli et anti-Protéus ont une efficacité semblable à celle des vaccins non spécifiques préparés à partir de souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

+ Ceci signifierait qu'il existe un antigène commun à la souche de *Pseudomonas aeruginosa* utilisée pour l'infestation et à toutes les bactéries qui sont gram négatif. Et ainsi tous les anti-corps anti-gram négatif réagiraient avec l'antigène de la souche 1-0 en donnant une protection efficace. Cette explication paraît peu probable, ce qui renforce l'éventualité d'une action du système réticulo endothélial.

c) Si la vaccination est faite deux semaines avant de provoquer la brûlure et non trois jours avant, elle n'induit une protection efficace que s'il s'agit de vaccin spécifique.

Normalement, le taux des anticorps est encore élevé deux semaines après l'immunisation et puisque ces anticorps ne donnent aucune protection lorsque l'on utilise un vaccin non spécifique, MARKLEY et SMALLMAN pensent que l'effet protecteur du vaccin administré deux ou trois jours avant brûlure pourrait être dû à une stimulation du système réticulo endothélial.

5°/

Au total, il est probable que la vaccination agit par ces deux mécanismes associés.

C/ MARKLEY et SMALLMAN après leurs expérimentations pensent que l'utilisation d'un vaccin spécifique peut constituer une thérapeutique prophylactique importante en vue de prévenir la mortalité par septicémie à *Pseudomonas aeruginosa* chez les brûlés.

L'avenir doit cependant s'orienter vers la recherche d'un vaccin polyvalent qui seul, peut apporter une protection efficace dans les services hospitaliers où les épidémies sont dues à des souches variées et plus ou moins virulentes de *Pseudomonas aeruginosa*.

Quatrième Chapitre , Deuxième Etude.

Travaux de JONES, R.J.

Du ; Medical Council Industrial Injuries
and Burns Research Unit, Birmingham.
Accident Hospital, Birmingham.

Les travaux de cet auteur poursuivent deux buts.

- Mise au point d'une immunisation passive par sérums hyperimmunisés.
- Mise au point d'une immunisation active par vaccination.

Nous étudierons successivement:

- 1° La mise en évidence de la fraction immunisante extractible
d'un filtrat de culture de *Pseudomonas aeruginosa*.
- 2° L'immunisation active : vaccination ; méthodes.
résultats.
- 3° L'immunisation passive : sérums hyperimmunisés ; méthodes.
résultats.

I FRACTIONS IMMUNISANTES

L'activité protectrice de fractions extra-cellulaires extraites de différentes souches de *Pseudomonas aeruginosa* est comparée sur des souris brûlées puis infestées avec des souches de *Pseudomonas aeruginosa* de sérotypes différents.

A/ Souches utilisées.

Trois souches de *Pseudomonas aeruginosa* sont utilisées :

- 1°/Type 14 de WAHBA : sous groupe 6c
très virulente
JONES l'appelle " P 14 " .
- 2°/Type 2 AB de VERON:sero type 5c
peu virulente
il l'appelle " P 2AB ".
- 3°/Troisième souche est d'origine humaine.
très virulent.
appelée " B4 ".

B/ Fractions extra cellulaires utilisées.

Huit sortes de fractions sont préparées à partir de filtrats de cultures de *Pseudomonas aeruginosa*.

1°/Filtrat lyophilisé,non fractionné.

Puis division, sur la base du poids moléculaire par passage sur "Séphadex G 200", du lyophilisat, en quatre fractions.

2°/ F₁ : toxique pour les souris.

3°/ F₂ : peu d'activité toxique et enzymatique.

4°/ F₃ : toxique pour les souris. Renferme au moins quatre substances .
protéase.
. lécithinase.
. élastase.
. hémolysine.

qui jouent un rôle dans le processus d'invasion
par les souches virulentes.

5°/ F₄ : peu d'activité toxique et enzymatique.

Enfin la fraction F₁ est divisée par passage sur "Sepharose AB"
en trois groupes ; en ordre décroissant de poids
moléculaire :

6°/ fraction X .

7°/ fraction Y .

8°/ fraction Z .

JONES étudie ensuite le pouvoir immunisant de ces fractions
vis à vis des trois souches de *Pseudomonas aeruginosa*.

F₁ et F₂ montrent une certaine toxicité pour les souris.

Par utilisation, pour l'immunisation, de doses sub-léthales,
l'auteur espère diminuer la sévérité des effets toxiques
engendrés par ces deux fractions.

II VACCINATION ; Immunisation active.

==/== TECHNIQUE

A/ Protection contre une souche homologue.

1°/A six souris, on injecte trois extraits différents de P 14.

Injection faites avec quatre doses différentes: 10-1-0,1-
- 0,01 milligramme par kilogramme.

Les trois extraits sont : le filtrat lyophilisé non fractinné.

la fraction F_1 .

la fraction F_3 ;

2°/Les injections sont faites en intra-péritonéal à raison
d'une injection par semaine pendant trois semaines.

3°/Dix jours après la dernière injection, les souris (pesant
vingt cinq grammes) sont rasées et
quatre jours après sont brûlées par immersion dans l'eau
à cent degrés pendant dix secondes sur cinq pour cent
de la surface corporelle.

4°/Trois heures après brûlure, la zone lésée est inoculée
avec une suspension en sérum physiologique de 10^8 germes
Cette suspension est préparée à partir de la souche P 14.

B/ Protection contre des souches homologues et hétérologues avec
la fraction F_1 .

1°/Trente souris sont vaccinées par injections intra-
péritonéales avec la fraction F_1 de la souche P 14,
à raison de 0,1 milligramme par kilogramme.

b) Trente autres souris sont identiquement vaccinées, mais avec la fraction F_1 de la souche P 2AB.

1°/Le protocole expérimental est le même qu'en A/ ,mais

+ Dix souris de chacun des deux groupes sont infestées avec la souche P14.

+ Dix autres dans chaque groupe le sont avec la souche B4.

Les dix dernières de chaque groupe sont infestées avec la souche P2AB.

Dans les mêmes conditions, un lot de souris témoins non vaccinées est infesté.

C/ Protection contre les souches homologues et hétérologues avec les fractions X, Y et Z.

1°/Des groupes de vingt souris sont inoculées avec les fractions X, Y et Z suivant le même protocole.

2°/+ Puis dix souris de chaque groupe sont infestées avec la souche P14.

+ Puis dix autres avec la souche B4.

== Annexe 1

A/ Avec la vaccination par souche homologue avec les trois variétés : lyophilisat non fractionné, F_1 , F_2 ; de P14.
Les souris sont infestées par cette même souche.
On observe : (voir la figure IX)

IMMUNISATION ACTIVE CONTRE INFECTION HOMOLOGUE

Mortalité des Souris ; brûlés, Immunisés avec fractions Sephadex G200 préparées à partir de *P. aeruginosa* P14 et infectées par P14.

FRACTION IMMUNISANTE	QUANTITÉ INJECTÉE CHAQUE SEMAINE en mg/kg	MORTALITÉ	TEMPS MOYEN de SURVIE des SOURIS MORTES	P.a. retrouvé dans sang du coeur
Lyophilisat non fractionné	10	4/6	10 jours	4/4
	1	2/6	9	2/2
	0,1	4/6	6 1/2	4/4
	0,01	4/6	5 1/2	4/4
F ₁	10	4/6	8 1/2	4/4
	1	2/6	6 1/2	1/2
	0,1	0/6	1	1/4
	0,01	2/6		
F ₃	10	3/6	11 1/2	3/3
	1	3/6	6	3/3
	0,1	3/6	14	3/3
	0,01	3/6	11	3/3
Témoins		6/12	3	6/6

d'après JONES, R.J.

FIGURE IX

1°/Inefficacité du lyophilisat non fractionné et de F_5 pour protéger de l'invasion septicémique.

2°/La fraction F_1 à la dose de 0,1 milligramme par kilogramme protège contre l'infection homologe.
Si une dose supérieure à 0,1 milligramme par kilogramme est utilisée, la protection est moins bonne.

P/ Vaccination par fraction F_1 contre une infection homologue ou hétérologue.

Voir la figure X.

Toutes les souris immunisées sont protégées de la septicémie et ne meurent pas, qu'elles soient infestées par une souche homo ou hétérologue, très virulente ou peu virulente.
 F_1 protège donc de façon croisée.

Nous remarquons également que JONES obtient une immunisation efficace contre deux souches virulentes, P14 et B4, en vaccinant à partir d'une souche peu virulente : P2AB.

Dans des recherches récentes, 1969, ce même auteur s'emploie à purifier, détoxifier cette fraction F_1 , immunologiquement protectrice.

La dose de vaccination de 0,1 milligramme par kilogramme semble être optimum pour l'efficacité immunisante, car une dose supérieure ne donne pas une aussi bonne immunisation.

Ceci semble être dû au fait que cette dose est proche de la Dose Létale 50 pour la souche de *Pseudomonas aeruginosa* considérée.

C/ Vaccination par les fractions X,Y et Z de F₁ .

voir la figure XI

Ces trois fractions induisent la même protection chez les souris brûlées, qu'elles soient infestées avec la souche homologue P14 ou hétérologue B4 .

JONES remarque que cette fraction Z de F₁ n'est pas toxique pour les souris à des doses quatre cents fois supérieures à la dose immunisante efficace ; quarante milligrammes par kilogramme contre un dixième de milligramme par kilogramme.

JONES purifie cette fraction Z.

Z obtenu par passage de F₁ sur Sépharose 4B, est traité par Sépharose 2B.

Cette fraction "Sépharose 2B" est additionnée d'une solution formolée à un demi pour cent, ce qui a pour effet
a) de diminuer sa toxicité de cinquante pour cent.
b) d'atténuer les effets secondaires de cette vaccination.
Mais sans modification de l'action immuno-protectrice.

IMMUNISATION ACTIVE contre infection HOMOTETEROLOGUE

Protection croisée des souris brûlées, infectées avec des souches virulentes de *Pseudomonas aeruginosa*, par immunisation avec la fraction "Sépharose-4B" de P.a.P₁₄.

Fractions "Sépharose 4B" utilisées	Dose injectée en mg/kg par semaine	Souche de <i>P.aeruginosa</i> inoculée.	Mortalité	Temps de survie des souris décès (en jours)	<i>P.aeruginosa</i> retrouvés dans sang du cadavre
X	0,1 0,1	P 14 B 4	1/10 1/10	9 9	0/1 0/1
Y	0,1 0,1	P 14 B 4	0/10 1/10	7	0/1
Z	0,1 0,1	P 14 B 4	1/10 2/10	7 10	0/1 0/1
Témoins		P 14 B 4	8/10 10/10	3 5	8/8 10/10

FIGURE XI

IMMUNISATION ACTIVE CONTRE INFECTION HOMO-METEOLOGUE

Protection par immunisation avec F₁ [Sephadex G200] des souris brûlées puis infectées avec souches virulentes de *P. aeruginosa*.

FRACTION IMMUNISANTE	DOSE DONNEE par SEMAINE mg/kg	SOUCHE de P.a. inoculés aux brûlés	MORTALITÉ	SURVIE MOYENNE avant décès	P.a. retrouvé de coeur
F ₁ de P ₁₄	0,1 mg/kg	P ₁₄	0/10		
	0,1	B ₄	1/10	10 jours	
	0,1	P ₂ AB	1/10	6 jours	
	0,1				
F ₁ de P ₂ AB	0,1	P ₁₄	2/8	8 jours	1/2
	0,1	B ₄	0/10		
	0,1	P ₂ AB	0/10		
Témoin		P ₁₄	5/5	4	5/5
		B ₄	5/5	6½	5/5
		P ₂ AB	0/5		

d'après JONES, R.S.

FIGURE X

III IMMUNISATION PASSIVE ; SERUMS HYPERIMMUNISES.

== TECHNIQUE

Les sérums hyperimmunisés sont préparés par injection intra veineuse au lapin de fractions F_1 ou F_3 ou de lyophilisat non fractionné.

A/Immunisation avec sérum hyperimmunisé anti-fraction F_1 de la souche P14.

1°/Cent souris mâles Schofield pesant vingt cinq grammes sont épilées puis brûlées.

2°/Au moment de la brûlure, les souris, par groupes de vingt reçoivent 0,1 ou 0,001 ou 0,001 ou 0,0001 millilitre de sérum hyperimmunisé de lapin en une injection intra péritonéale.

Vingt souris servent de témoins.

3°/Trois heures après, pour dix souris sur vingt, les zones brûlées sont infestées avec une suspension saline de la souche P14.

Les dix autres souris sont infestées avec la souche B4.

B/ Immunisation avec sérum hyperimmunisé anti-fraction F_3 de la souche P14 de *Pseudomonas aeruginosa*.

Même protocole que précédemment. Mais les doses de sérum injectées sont de : 0,5 ou 0,1 ou 0,01 millilitre.

==/== RESULTATS

A/ Sérum hyperimmunisé préparé à partir de F₁. voir la figure XII.

1°/La meilleure protection est obtenue dans le lot de souris qui ont reçu 0,1 millilitre de sérum, et qui ont été infectée par la souche homologue P14.

2°/La protection est minime si l'infestation est hétérologue.

B/ Sérum hyperimmunisé préparé à partir de F₃ de la souche P14 voir la figure XIII.

La protection est meilleure dans le groupe de souris infestées par P14.

que dans celui infesté par B4.

Là encore l'immunisation croisée n'est pas efficace.

C/ Importance de la voie d'inoculation du sérum hyperimmunisé.

JONES a comparé les résultats obtenus selon la voie d'injection parentérale.

La protection par injection intra musculaire est semblable à celle obtenue par injection intra péritonéale à la condition que le sérum soit injecté à raison de 0,25 millilitre quatre jours de suite.

IMMUNISATION PASSIVE PAR SÉRUM HYPERIMMUNISÉ

Immunisation des souris brûlées et infectées :
 par sérum hyperimmunisé préparé à partir de la
 Fraction F₁ de la souche P₁₄ de *Ps.aeruginosa*

MATÉRIEL UTILISÉ POUR PRÉPARER le SÉRUM HYPERIMMUNISÉ	DOSE INJECTÉE de SÉRUM HYPERIMMUNISÉ [en ml]	Souche de <i>Ps. aeruginosa</i> utilisée pour l'infection	MORTALITÉ	TEMPS DE SURVIE DES SOURIS DÉCÉDÉS [en jours]	<i>Ps.aeruginosa</i> RETROUVÉ DANS LE SANG DU CŒUR DES SOURIS DÉCÉDÉS
Souche de <i>Ps. aeruginosa</i>	Fraction				
P ₁₄	F ₁	0,1 0,01 0,001 0,0001	P ₁₄	14 10 5 3	1/1 1/3 9/9 8/8
P ₁₄	F ₁	0,1 0,01 0,001 0,0001	B ₄	7 6 3 4	6/6 9/9 9/9 10/10
Témoins			P ₁₄	3	10/10

FIGURE XII

IMMUNISATION PASSIVE PAR SÉRUM HYPERIMMUNISÉ

Immunsation des souris brûlées et infestées
Par sérum hyperimmunisé, préparé à partir de la
Fraction F₃ de la souche P₁₄ de *Ps. aeruginosa*.

MATÉRIEL UTILISÉ POUR PRÉPARER le SÉRUM HYPERIMMUNISÉ	Fraction	DOSE INJECTÉE DE SÉRUM HYPERIMMUNISÉ [en ml.]	Souche <i>Ps. aeruginosa</i> utilisée pour l'infestation	MORTALITÉ	TEMPS DE SURVIE DES SOURIS DÉCÉDÉES [en jours]	<i>Ps. aeruginosa</i> RETROUVE DANS LE SANG DU COEUR DES SOURIS DÉCÉDÉES
P ₁₄	F ₃	0,5	P ₁₄	2/10	8	2/2
		0,1		3/10	8	3/3
		0,01		5/10	5	5/5
P ₁₄	F ₃	0,5	B ₄	4/10	11	4/4
		0,1		4/10	6	4/4
		0,01		7/10	7	7/7
Témoins			P ₁₄ B ₄	8/10	4	8/8
				5/5	5	5/5

IV

CONCLUSIONS

portées par JONES sur ses travaux.

1°/ Un sérum hyperimmunisé préparé à partir d'une souche de séro-type donné ne protège pas, ou faiblement de façon non efficace, des infections par *Pseudomonas aeruginosa* d'un autre séro-type, même s'il s'agit de germes de même souche.

Un sérum polyvalent s'avère nécessaire pour la prophylaxie anti-*Pseudomonas aeruginosa*.

2°/ Il attribue l'efficacité du sérum hyperimmunisé à l'impossibilité qu'il entraîne pour *Pseudomonas aeruginosa* d'envahir les tissus et le sang des souris protégées.

Au total JONES considère que l'on peut envisager d'utiliser ces méthodes: Créer une immunité active pour éviter l'apparition d'infection à *Pseudomonas aeruginosa*.

Apporter une immunité passive, renforçant les défenses de l'organisme chez les brûlés.

Nous signalons que JONES a étudié, sans succès semble-t-il, l'éventualité de relancer les défenses immunologiques naturelles des brûlés par l'injection d'extraits de peaux brûlées.

Quatrième Chapitre , Troisième Etude.

Travaux de MILLICAN,R.C./RUST,J.D./EVANS,G.

Du : National Institute of Arthritis and Metabolic Diseases,
National Institute of Health,
Department of Health,Education and Welfare,
U.S.Public service,
BETHESDA, Maryland.

Ces auteurs ont également orienté leurs travaux vers deux buts:

- obtenir une immunité passive.
- obtenir une immunité active.

**=/= Recherche d'une immunité passive par utilisation d'un
sérum hyperimmunisé**

Comme l'ont montré MARKLEY, K. et Coll. en 1957, les septicémies à *Pseudomonas aeruginosa* sont la cause majeure de mortalité chez les grands brûlés.

Dans ces infections graves, l'antibiothérapie est en règle peu efficace.

Pour ce qui est des gamma-globulines d'origine humaine, s'il a été prouvé qu'elles approuaient une bonne protection lors d'une utilisation préventive, on sait que leur efficacité curative est minime. Dès le début de l'infection, elles sont inefficaces.

Ces diverses constatations ont donné l'idée en 1960 à MILLICAN, R.C. et coll. de mettre au point un sérum hyperimmunisé efficace tant au cours d'une utilisation prophylactique que thérapeutique.

I/Techniques et méthodes utilisées.

A/Préparation du sérum hyperimmunisé.

1°/Souches utilisées.

Neuf souches différentes de *Pseudomonas aeruginosa* sont employées:

Huit ont été isolées de septicémies humaines à Lima au Pérou

La neuvième, PARKER a été fournie par VERDER, E. collection.

Il faut noter que la souche 180 a été employée aussi bien dans les études d'immunisation et de sérologie que dans les infections des souris.

2°/Technique de préparation du sérum.

- a) Des germes vivants sont injectés par voie intra-veineuse à des lapins albinos, pesant de un et demi à trois kilogrammes.
- b) Les injections ont lieu à des intervalles de quatre jours.
- c) Les quantités injectées sont croissantes: 0,1 - 0,5 - 1 - 2 et enfin 2,5 millilitres.
Huit jours après la dernière injection, on prélève du sang.
- d) Une injection de rappel de un millilitre est pratiquée à la quatrième ou sixième semaine.
Huit jours après, prélèvement de sang dont on sépare le sérum.

3°/Gamma globulines utilisées.

Les auteurs utilisent, pour comparaison des gamma globulines humaines. C'est de l'immun sérum de poliomyélitique. Ces préparations contiennent environ cent soixante milligrammes de protéines par millilitre.

B/Etude de l'action protectrice du sérum hyperimmunisé chez la souris.

1°/Principes.

- a) L'activité immunisante de ce sérum est basé sur la possibilité qu'il a de protéger les souris contre une infection léthale par *Pseudomonas aeruginosa*.
- b) L'infestation des souris est assurée par injection d'une suspension de germes dans du mucus.
- c) L'efficacité est appréciée en comparant le pourcentage du taux de mortalité obtenu chez les souris ayant reçu du sérum hyperimmunisé et selon des doses différentes avec le taux de mortalité chez les souris non traitées.

2°/Techniques

- a) Les animaux sont des souris femelles, albinos pesant de dix huit à vingt deux grammes.
- b) Les lots sont de cinq ou de dix souris.
- c) Elles reçoivent en intra-péritonéal une dose de sérum.
- d) Après deux à quatre heures, les souris sont inoculées en intra-péritonéal avec un demi millilitre de suspension de germes dans du mucus gastrique de porc.
Cette dose infestante représente un à huit 10^4 germes.
- e) On observe normalement, en moins de trente six heures une mortalité de quatre vingt dix à cent pour cent chez les animaux non traités.

II RESULTATS OBTENUS.

Les auteurs envisagent plus particulièrement trois cas :

- Action protectrice du sérum hyperimmunisé contre l'infection à *Pseudomonas aeruginosa*.
- Comparaison de l'activité de ce sérum hyperimmunisé par rapport à celle des gamma globulines humaines.
- Action protectrice de ce sérum sur des souris brûlées puis infest.

A/Action protectrice contre *Pseudomonas aeruginosa*.

1°/MILLICAN et coll. montrent que le sérum de lapin hyper immunisé possède une action thérapeutique contre les infections mortelles à *Pseudomonas aeruginosa* bien supérieure à celle d'un sérum ordinaire.

- a) Chez des souris infestées et non traitées, le taux de mortalité est de quatre vingt quatorze pour cent.
Chez des souris ayant reçu du sérum normal, il est de quatre vingt à cent pour cent.

Chez celle ayant reçu du sérum hyperimmunisé, le taux de mortalité est de zéro à soixante dix pour cent.

b) D'après le tableau de la figure XIV, il semble que la dose de sérum hyperimmunisé à action protectrice maximum se situe entre 0,0001 et 0,1 millilitre.

c) Si on infeste les souris avec des doses de germes dix à cent fois plus fortes, on constate que l'action protectrice du sérum hyperimmunisé existe toujours.

Le sérum est toujours donné deux à trois heures avant l'infestation par la souche 180.

Sérum et dose infestante étant injectés en intra-péritonéal. voir la figure XV.

TRAITEMENT	DOSE INJECTÉE EN INTRA-PÉRITONÉAL [en ml]	POURCENTAGE DE SURVIVANTS APRÈS 72 HEURES
SÉRUM NORMAL	10	0 %
	10 ⁻¹	15 %
	10 ⁻²	0 %
SÉRUM HYPERIMMUNISÉ	10 ⁻¹	100 %
	10 ⁻²	100 %
	10 ⁻³	95 %
	10 ⁻⁴	100 %
	10 ⁻⁵	60 %
	10 ⁻⁶	30 %
	10 ⁻⁷	30 %
	10 ⁻⁸	30 %

FIGURE XIV

2°/Les résultats les plus notables sont :

a)Le sérum hyperimmunisé préparé à partir de la souche 180 protège les souris d'une infestation par pool de s neufs souches. Mais l'identité sérologique exacte de ces souches n'étant pas connue, on ne sait donc pas si l'activité protectrice du sérum hyperimmunisé s'étend à un ou plusieurs types sérologiques.

NOMBRE DE GERMES VIVANTS INOCULÉS [souche 180 P _s . aer.]	DOSE & SÉRUM HYPERIMMUNISÉ INJECTÉE : en ml	POURCENTAGE DE SURVIVANTS APRÈS 72 HEURES
10^3	10^{-2}	100 %
	10^{-3}	95 %
	10^{-4}	100 %
10^5	10^{-4}	100 %
	TÉMOIN	0 %
10^6	10^{-3}	100 %
	10^{-2}	90 %
	TÉMOIN	0 %
10^7	10^{-1}	100 %
	10^{-2}	0 %
	TÉMOIN	0 %

FIGURE XV

b) L'action protectrice est maximum si l'antisérum est donné à titre prophylactique. voir la figure XVI

Dans ce mode d'utilisation, les auteurs ont montré que la voie d'injection était importante .

+ Pour une même dose, l'injection intra-veineuse procure une protection dix fois moins bonne que par injection intra-péritonéale.

+ La même dose en intra-musculaire donne une protection cent fois inférieure à la voie intra-péritonéale.

c) Le sérum hyperimmunisé est également efficace à titre thérapeutique donc donné après infestation. L'efficacité est moindre, mais encore nette: mortalité à soixante trois pour cent en vingt quatre heures contre soixante quinze pour cent pour les animaux non traités.

INFESTATION		SÉRUM HYPERIMMUNISÉ		POURCENTAGE DE SURVIVANTS APRÈS 72 HEURES
SOUCHE DE PS. AERUGINOSA	DOSE	MOMENT DE INFECTION PAR RAPPORT A L'INFESTATION	DOSE INJECTÉE [en ml]	
180	10^{-3}	PROPHYLACTIQUE 2 HEURES AVANT	10^{-4}	100 %
180	10^{-3}	THERAPEUTIQUE 15 MINUTES APRÈS	10^{-3} à 10^{-2}	87 %
		5 1/2 HEURES APRÈS	10^{-2} à 10^{-1}	63 %
		11 HEURES APRÈS	10^{-1}	37 %
180	10^{-3}	TEMOIN		13 %

FIGURE XVI

B/Comparaison d'activité entre sérum hyperimmunisé et gamma globulines humaines.

1°/Une dose protégeant la moitié des animaux est appelée ED50

L'activité relative du sérum hyperimmunisé par rapport aux gamma globulines est exprimée par

ED 50 gamma globulines
ED 50 sérum hyperimmun

2°/

a)Des préparations de sérum hyperimmunisé ont une activité deux cent trente à sept cent quatre vingt fois plus grande que les gamma globulines.

b)En outre, la purification de gamma globulines extraites du sérum hyperimmunisé ; par chromatographie sur colonne de DEAE, ou persulfate d'ammonium, entraîne une activité quatre fois supérieure à celle du sérum hyperimmunisé brut.

3°/Sur le plan sérologique.

a)Les réactions d'agglutination, de fixation du complément et d'hémagglutination sont positives, tant pour les gamma globulines que pour le sérum hyperimmunisé.

b)Cependant les taux obtenus par les gamma globulines humaines sont toujours inférieurs à ceux du sérum.

C/Chez les souris brûlées et infectées.

Dans ce cas aussi MILLICAN et coll. ont cherché à préciser l'activité du sérum hyperimmunisé chez des souris infestées puis brûlées.

Les mêmes auteurs avec ROSENTHAL, S.M. ont montré, en 1957, que les gamma globulines protègent les souris brûlées contre une infestation par *Pseudomonas aeruginosa*.

17/ a) Les souris sont brûlées dans l'eau à soixante dix degrés pendant cinq minutes.

Puis elles reçoivent du sérum physiologique pour surmonter la phase de choc.

b) Le lendemain, infestation par injection intra-péritonéale avec la souche 180 de *Pseudomonas aeruginosa*.

c) Après deux à quatre jours:

- certaines souris reçoivent du sérum hyperimmunisé, trois injections de 0,01 millilitre.
- d'autres du sérum normal.
- les dernières non traitées servent de témoins.

18/ Résultats voir la figure XVII.

Les résultats prouvent que l'action du sérum hyperimmunisé est supérieure à celle du sérum normal.

19/

Les travaux de MILLICAN et Coll. montrent l'efficacité du sérum hyperimmunisé tant à titre curatif mais surtout prophylactique pour lutter contre les infections mortelles à *Pseudomonas aeruginosa*.

Au total, la préparation purifiée du sérum hyperimmunisé est deux cent cinquante à huit cents fois plus efficace que les gamma globulines humaines standard.

COMPARAISON DES RÉSULTATS OBTENUS LORS DE
LA PROTECTION DES SOURIS AVEC DU SÉRUM
NORMAL ET DU SÉRUM HYPERIMMUNISÉ

[MILLICAN. 1960]

TRAITEMENT : SÉRUM . NORMAL . HYPERIMMUNISÉ 2 à 4 JOURS APRÈS BRULURE ET INFESTATION	TAUX DE MORTALITÉ EN POURCENTAGE; OBSERVÉS APRÈS :	
	1 SEMAINE	3 SEMAINES
TÉMOINS BRULÉS NON INFESTÉS	20 %	48 %
TÉMOINS BRULÉS INFESTÉS NON VACCINÉS	65 %	85 %
SÉRUM NORMAL INTRA. PÉRITONÉALE	55 %	80 %
SOUS. CUTANÉE	55 %	95 %
SÉRUM HYPERIMMUNISÉ INTRA. PÉRITONÉALE	25 %	45 %
SOUS. CUTANÉE	18 %	25 %

FIGURE XVII

RECHERCHE d'une IMMUNITÉ ACTIVE par VACCINATION

MILLIGAN et Coll. ont voulu étudier aussi la possibilité de protéger par vaccination, avant ou après brûlure, des souris brûlées puis infestées par *Pseudomonas aeruginosa*.

I/Techniques et Méthodes.

A/Animaux utilisés.

Ce sont des souris femelles pesant de quatorze à vingt grammes.

B/Technique de brûlure.

Elle est semblable à celle décrite au début de ce cinquième chapitre.

Immersion pendant cinq secondes dans de l'eau à soixante dix degrés; ce qui donne une brûlure d'environ trente trois pour cent de la surface corporelle.

Cette brûlure entraîne une mortalité spontanée de cinq à vingt pour cent au huitième jour et de quarante cinq à soixante dix pour cent à la troisième semaine.

C/Préparation des vaccins

MILLIGAN et Coll. préparent trois types de vaccins.

1°/Vaccin tué par la chaleur.

Obtenu à partir de la souche de *Pseudomonas aeruginosa* 180. La suspension de germes est chauffée à cent degrés pendant trois heures, puis conservée par du merthiolate.

2°/Vaccin également tué par la chaleur, mais préparé à partir d'une souche d'*Escherichia coli* selon la même technique.

3°/Le dernier vaccin est formolé. Il est préparé à partir de la souche de *Pseudomonas aeruginosa* 180.

A la suspension de germes, les auteurs rajoutent du formol jusqu'à obtention d'une solution à 0,5 pour cent.

D/Protocoles de vaccination.

MILLICAN et Coll. en ont expérimenté trois types.

1°/Immunisation à court terme.

Trois à deux jours avant de provoquer la brûlure, les souris reçoivent en sous-cutané 0,1 millilitre de vaccin soit vaccin pur ou soit une dilution au millième.

2°/Immunisation à long terme.

Les injections sous-cutanées de 0,1 millilitre sont faites quinze, onze, neuf et sept jours avant brûlure.

3°/Immunisation après brûlure.

Immédiatement après brûlure, les souris sont inoculées en intra péritonéal ou en sous-cutané avec 0,1 millilitre de vaccin, là aussi soit pur, soit dilué au un millième.

E/Infestation des souris.

Elle est faite par la souche *Pseudomonas aeruginosa* 180.

MILLICAN et Coll. constatent :

1°/Une suspension de germes diluée au un millième en intra péritonéal entraîne un taux de mortalité spontané de dix pour cent.

2°/Par contre, l'injection intra-péritonéale d'une suspension de germes dilués au un centième, ce qui correspond à environ $1,4 \cdot 10^7$ germes, entraîne une mortalité spontanée de quatre vingt dix pour cent des animaux en moins de deux jours

II Résultats obtenus.

A/Immunisation à court terme.

1°/Injection de vaccin formolé trois et deux jours avant brûlure, dose de 0,1 millilitre par voie sous-cutanée du vaccin pur ou dilué au un millième.

2°/Trois jours après brûlure, donc cinq jours après l'injection de la deuxième dose vaccinale, infestation par inoculation en sous-cutané d'une dilution au un centième de la souche de *Pseudomonas aeruginosa* 180, ce qui, approximativement correspond à $1,4 \cdot 10^7$ germes.

3°/ voir la figure XVIII.

a) Pour interpréter les résultats, il faut tenir compte de deux dates: - le dixième jour après brûlure. C'est le moment où l'on observe, spontanément le plus grand taux de mortalité.

- le vingt et unième jour.

b) Au dixième jour.

Les vaccins, pur et dilué, protègent les souris de façon significative :

+ animaux non vaccinés; mortalité quatre vingt trois %.

animaux ayant reçu le vaccin pur ; mortalité est de treize pour cent.

+ animaux ayant reçu le vaccin dilué au un centième ; le taux de mortalité est de quarante trois pour cent.

Au vingt et unième jour.

Ni le vaccin pur, ni le vaccin dilué ne fournissent une protection statistiquement significative.

c) MILLICAN et Coll. remarquent qu'ils obtiennent une même protection par vaccination de souris non brûlées, mais infestées par la même souche à la même dilution ; quatre

vingt quinze pour cent de survivants lorsque 0,1 millilitre de vaccin dilué au un millième est injecté par voie sous-cutanée trois et deux jours avant infestation.

B/Immunisation à long terme.

1°/Injection par voie sous cutanée les quinzième, onzième, neuvième et septième jours avant brûlure.

2°/Trois jours après brûlure, on provoque une infestation identique, injection par voie sous-cutanée d'environ $1,4 \cdot 10^7$ germes.

3°/Résultats. voir la figure XIX.

Comme on l'observe sur ce tableau, au dixième jour, on obtient une bonne protection avec le vaccin pur.

Quant au vaccin dilué, s'il entraîne une légère diminution de la mortalité, sa protection n'est cependant pas statistiquement significative.

C/Vaccination après brûlure.

1°/ voir figure XX

a) Pour cette expérimentation, l'infestation des souris est faite non pas le troisième jour après brûlure, mais le quatrième.

b) Le vaccin est injecté pur par voie sous-cutanée cinq à dix minutes après brûlure.

°/

c) En injection sous-cutanée, les deux vaccins, formolé et tué par la chaleur, employés purs, préparés à partir de la souche *Pseudomonas aeruginosa* 180, apportent une bonne protection

IMMUNISATION A COURT - TERME	TAUX de MORTALITÉ EN POURCENTAGE			
	SELON LE NOMBRE DE JOURS ECOULÉS DEPUIS LA BRÛLURE			
	4 JOURS	8 JOURS	10 JOURS	21 JOURS
INJECTION PAR VOIE SOUS- CUTANÉE DE 0,1 ml DE VACCIN FORTOLÉ				
VACCIN PUR	0 %	5 %	13 %	28 %
VACCIN DILUÉ AU 1/1000 ^{ème}	0 %	20 %	43 %	55 %
TÉMOINS	10 %	70 %	83 %	95 %

FIGURE XVIII

IMMUNISATION A LONG - TERME	TAUX de MORTALITÉ EN POURCENTAGE			
	SELON LE NOMBRE DE JOURS ECOULÉS DEPUIS LA BRÛLURE			
	4 JOURS	8 JOURS	10 JOURS	21 JOURS
INJECTION PAR VOIE SOUS- CUTANÉE DE 0,1 ml DE VACCIN FORTOLÉ				
VACCIN PUR	2 %	5 %	25 %	38 %
VACCIN DILUÉ AU 1/1.000 ^{ème}	8 %	43 %	57 %	63 %
TÉMOINS	38 %	90 %	92 %	100 %

FIGURE XIX

nendant les trois semaines qui suivent la brûlure.

b) Au contraire, les mêmes vaccins, mais utilisés dilués, ou celui préparé à partir d'*Escherichia coli* sont inefficaces.

c) Si ces vaccins sont injectés en intra péritonéal, on constate que le vaccin dilué au un millième est dans ce cas plus efficace que le vaccin utilisé pur.

3°/MILLIGAN et Coll. insistent sur l'importance du moment de l'infestation. En effet, si les animaux sont infestés le troisième jour après brûlure et non le quatrième, les vaccins n'ont plus d'action.

4°/Cette vaccination, après brûlure est, il nous semble, la plus intéressante car c'est elle qui pourrait être utilisable en thérapeutique humaine.

VACCINATION - 5 à 10 min. APRÈS BRÛLURE - PAR VOIE SOUS-CUTANÉE	INFESTATION - 4 JOURS APRÈS BRÛLURE	TAUX de MORTALITÉ en POURC selon le Nombre de Jours écoulés depuis la brûlure		
		8 JOURS	11 JOURS	21 JOURS
VACCIN FORMOLÉ	INOCULATION PAR VOIE INTRA-PÉRITONÉALE	22 %	30 %	30 %
VACCIN TUÉ par CHALEUR Extrait à partir de la souche 180 <i>Ps. aeruginosa</i>	DE SOUCHE 180 <i>Ps. aer.</i> . 0,5 ml à 10^{-2} . soit une densité de germes égale à $1,4 \cdot 10^7$	20 %	28 %	40 %
VACCIN TUÉ par CHALEUR Extrait à partir de la souche <i>E. coli</i>		55 %	70 %	80 %
TÉMOINS BRULÉS + INFESTÉS NON VACCINÉS		58 %	63 %	70 %

III CONCLUSION des TRAVAUX de MILLICAN et Coll.

Par leurs travaux ces auteurs ont permis de montrer:

A/

1°/L'infection par *Pseudomonas aeruginosa* des souris brûlées ressemble beaucoup aux infections rencontrées chez l'homme et entraîne une forte mortalité.

2°/MILLICAN et Coll. ont noté que la mortalité des souris brûlées mais non infestées par *Pseudomonas aeruginosa* a augmenté de façon importante.

Ils expliquent ce fait par la contamination du milieu environnant.

B/la période de plus grande sensibilité à l'infection débute immédiatement après la brûlure et persiste plus de vingt quatre heures si l'infestation est faite en sous-cutané, mais moins de vingt quatre heures si les germes sont injectés en intra péritonéal.

Au bout de quarante huit heures, on note un retour progressif de la résistance à l'infection, qui est pratiquement revenue à la normale le cinquième jour après brûlure.

C/MILLICAN et Coll. pensent que la particulière sensibilité des animaux brûlés à se contaminer est liée à une déficience du système de défense.

Ils pensent que ce phénomène peut être du :

- soit à une mauvaise circulation.
- soit à une réaction hormonale à l'agression, adrénaline par ex.
- soit aux toxines libérées par les tissus brûlés.

Le retour à la normale de la résistance s'expliquerait par l'action des anticorps ou celle des leucocytes.

Les dosages d'anticorps circulants montrent que le taux le plus bas se situe le troisième jour après brûlure puis augmente et est maximum le cinquième, moment auquel la

résistance de l'organisme revient à la normale.

L'ensemble des expériences de MILLICAN et Coll. renforce ces hypothèses.

Celles qui mettent en évidence l'action protectrice de la vaccination faite avant brûlure, prouvent, indirectement qu'un tel traumatisme n'abolit pas les mécanismes de défense liés aux anticorps circulants.

Les expériences de vaccination après brûlure prouvent qu'une telle agression n'altère pas la production d'anticorps.

D/La protection fournie par le vaccin préparé à partir de la souche *Pseudomonas aeruginosa* 180, semble être spécifique.

E/Enfin MILLICAN et Coll. pensent que les résultats obtenus permettent d'espérer que l'on puisse envisager le même traitement chez l'homme brûlé, afin de le protéger des septicémies à *Pseudomonas aeruginosa*.

Puisque l'on a observé que la plus grande fréquence des septicémies se situe entre le troisième et le septième jour chez l'enfant et entre la deuxième et la quatrième semaine chez l'adulte, il semble nécessaire d'administrer un tel vaccin aussitôt après brûlure, à l'arrivée en centre hospitalier.

Enfin MILLICAN et Coll. pensent nécessaire de mettre au point un vaccin polyvalent qui seul, permettra de prévenir les septicémies humaines.

Quatrième Chapitre , Quatrième Etude.

Travaux de ALMS,T.H. et BASS,J.A.

Pour ces auteurs,il nous semble intéressant de suivre
l'evolution de leurs recherches de 1964 à 1967;

I En 1964.

ALMS et BASS isolent à partir d'une culture de *Pseudomonas aeruginosa* précipitée par l'éthanol une substance soluble peu toxique.

Ils l'étudient et trouvent :

1°/Il s'agit d'une substance de nature mucoïde, riche en glucides et acides nucléiques.

2°/Elle est très fortement antigénique :

a) Elle protège à quatre vingt quinze pour cent et pendant environ vingt cinq jours les souris infestées par une dose dix fois DL 50 de *Pseudomonas aeruginosa*.

b) Si on injecte cette substance à des lapins, l'antisérum obtenu confère une immunité passive à des souris.

3°/ALMS et BASS ont isolé la partie active de cette substance, elle fait partie de la fraction glucidique.

II En 1966

ALMS et BASS précisent les techniques d'extraction de la fraction active, antigénique.

1°/La technique d'extraction comporte :

a) Une centrifugation séparant le culot

d'un surnageant visqueux.

b) Ce surnageant est précipité par l'alcool

puis additionné d'acétate de sodium.

d'acide acétique.

d'éthanol.

c) Après une heure se forme un précipité appelé Alcohol Precipitated Fraction ou A.P.F.

Cette A.P.F. correspond à la substance antigénique.

2°/Sa nature biochimique est précisée :

- + glucides cinquante pour cent.
- + protéines cinquante pour cent.
- + lipides environ un pour cent.

3°/Immunologie.

A.P.F. est une substance antigénique très active.

a) Elle donne une protection active chez les souris ayant été infestées par une dose cent fois DL 50 d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* homologue et vaccinées par une injection unique de 0,2 milligramme par une voie parentérale indifférente.

b) Elle donne également une protection passive.

Un antisérum de lapin préparé à partir de la fraction A.P.F. protège des souris infestées par une dose de cent DL 50 d'une souche homologue de *Pseudomonas aeruginosa*.

Ces protections n'existent pas vis à vis d'une souche hétérologue.

4°/Autres particularités.

- a) L'A.P.F. n'est pas toxique.
- b) Elle est thermostable.
- c) Elle diffère des endotoxines des autres gram négatif par
 - + La protection induite est de longue durée.
 - + Elle est limitée aux germes de même souche.
 - + Elle induit la formation d'anti corps protecteurs.
 - + Elle n'entraîne pas de réaction leucocytaires ni d'hyperthermie.

Après action de la trypsine et de l'acide trichloracétique,
qui précipite les fractions protéiniques,
l'action antigénique de l'A.P.F. n'est pas altérée.

En . . .

ALMS et BASS effectuent leurs travaux en deux temps.

- Dans un premier temps, étude de la protection apportée par la fraction A.P.F. chez des lots de souris.
- Dans un deuxième temps, purification de la fraction A.P.F. .

A/Expérimentation sur la souris.

1°/Techniques et Méthodes.

a) Germes employés.

Souches PA1 et PA7 de *Pseudomonas aeruginosa*.

PA7 est utilisée comme source de fraction A.P.F. .

b) Production de sérums hyperimmunisés.

Inoculation de 1,5 milligramme d'antigène A.P.F. à des lapins blancs.

On procède à quatre injections de un millilitre à trois jours d'intervalle,

puis huit jours après une nouvelle injection est faite en intra-péritonéale.

Une semaine après les sérums sont prélevés.

c) Souris utilisées.

Femelles Webster-Fairfield pesant vingt à vingt cinq grammes.

d) Infestation.

Après avoir déterminé la Dose Léthale pour cinquante pour cent des animaux, de la souche PA7, qui est de mille germes, on inocule les souris avec une dose supérieure ou égale à cent fois la DL 50.

2°/RESULTATS

(x) Immurisation active. Deux expériences sont pratiquées.

a) + Des lots de vingt souris reçoivent une seule injection intra veineuse ou sous cutanée ou intra péritonéale d'antigène purifié, à des concentrations variables.

+ Douze jours après, les animaux sont infestés par une dose cent trente six fois DL 50 de la souche PA7, donc homologue.

+ Aucun animal du lot témoin ne survit, tous ceux qui ont été vaccinés sont protégés. Cette protection est strictement homologue.

b) Recherche d'une immunité croisée.

+ Des lots de souris sont inoculées avec un milligramme d'antigène, souche PA7, en sous-cutané ou intra péritonéal aux premier, troisième et huitième jour.

Quatre jours après la dernière injection, ils sont infestés par souche homologue, PA7, ou hétérologue PA1, à la dose de dix fois la DL 50.

+ Dans ce cas, la protection est :
- totale pour la souche homologue.
- importante, quatre vingt cinq pour cent, pour la souche hétérologue.

(y) Immunisation Passive.

(y) Immunisation Passive.

- a) Obtention d'antisérum par injection d'antigène au lapin.
 b) Injection d'un quart de millilitre d'antisérum, à des dilutions variables, par voie sous cutanée quatre heures avant l'infestation par une souche homologe, PA7, à la dose de deux cent cinquante neuf fois la DL 50.

Lorsque la moitié des animaux est protégée, on connaît la dilution d'antisérum correspondant à E.D.50.

voir figure XVI.

SÉRUM HYPERIMMUNISÉ		POURCENTAGE DE SURVIVANTS SELON LES DILUTIONS du SÉRUM :				ED.50
OBTENTION	VOIES D'INOCULATION	1/5	1/50	1/500	1/5.000	
A PARTIR DE L'ANTIGÈNE PURIFIÉ	I / V	100%	70%	20%	0%	0,002 à 0,004
AVEC L'ADJUVANT DE FREUND	S / C	70%	50%	35%	0%	0,005
A PARTIR DE CELLULES TUÉES PAR LA CHALEUR	S / C	35%	0%	0%	0%	0,04 à > 0,05
SÉRUM NORMAL	S / C	0%	0%	0%	0%	

FIGURE XXI

(2) Recherche de la nature de la substance immunisante.

- + Des lots de souris reçoivent la substance antigénique.
- + D'autres reçoivent l'antigène, chauffé.
- + Il n'y a aucune différence significative, ce qui prouve que cet antigène est bien thermostable.

Par ces diverses expériences, ALMS et BASS ont prouvé que la fraction antigénique obtenue à partir de la souche PA7 apporte une bonne protection homologue.

Ils ont calculé la valeur ED 50.

- + 0,276 microgramme par millilitre à 0,0244 pour une dose de cinquante fois la DL 50.
- + 0,002 à 0,005 microgramme par millilitre pour une dose de cent fois la DL 50.
- + 0,003 à 0,0039 microgramme par millilitre pour une dose de deux cent cinquante neuf fois la DL 50.

Ils ont également prouvé la possibilité d'immunisation par sérum hyperimmunisé de lapin.

R/ Essai de purification de la fraction antigénique.

Les auteurs rappellent que la trypsine et l'acide trichloracétique n'altèrent pas les propriétés antigéniques de la fraction A.P.F. . Par contre, l'acide périodique les détruit.

- + Le fractionnement par chromatographie de l'A.P.F. met en évidence un pic de substances glucidiques dont la protection immunisante contre une infestation par une souche homologue est variable.

+ La ED 50 varie de quatre à sept nanogrammes pour une injection intra péritonéale, alors qu'elle est dix fois plus forte si l'injection est faite en sous-cutanée.

+ En outre, cette fraction A.P.F. n'est pas toxique pour les souris jusqu'à des doses de six cents à mille deux cents fois la ED50

Au total ALBS et BASS concluent que la propriété immunisante revient à la fraction glucidique seule.

Ils pensent même que seule une certaine partie de cette fraction a une action immunisante.

Ils considèrent que si une réponse semblable pouvait être induite chez l'homme, la prophylaxie et la thérapeutique par immunisation active ou passive serait possible chez tous ceux qui sont victimes d'infection à *Pseudomonas aeruginosa*.

Quatrième Chapitre , Cinquième Etude.

Travaux de LABORDE, H.F. et FAJARDO, C.L.

Du Laboratoire de Microbiologie.

Institut de Recherche des Sciences Biologiques.

MONTEVIDEO.

Uruguay.

Ces auteurs ont d'abord prouvé l'action protectrice de vaccins monovalents puis polyvalents.

Deux ans plus tard, leurs travaux permettent de mettre en évidence la possibilité d'une immunisation passive.

Nous envisagerons successivement ces deux séries d'expériences.

-#- VACCINATION

1° VACCIN MONOVALENT.

A/Techniques et Méthodes.

1°/Le vaccin est préparé à partir de la souche *Pseudomonas aeruginosa* II.CR.59, isolée d'un brûlé.

Cette souche est cultivée sur milieu nutritif à trente sept degrés pendant vingt quatre heures puis les colonies sont mises en suspension dans une solution de phénol salin à 0,5 pour cent.

On détermine sa DL 100 par numération des germes en boîte de pétri : elle est de $1,2 \cdot 10^8$ germes.

La concentration utilisée pour le vaccin est de $9 \cdot 10^8$ cellules par millilitre. Cette densité bactérienne ne donne ni trouble pathologique, ni lésion anatomo pathologique.

2°/Les animaux utilisés sont des souris qui pèsent de quinze à vingt grammes.

3°/Modalités expérimentales.

a) Injection du vaccin par voie sous cutanée à raison de 0,2 millilitre , répétée trois fois à quarante huit heures d'intervalle.

b) Cinq semaines après,

un lot de souris est inoculé avec *Pseudomonas aeruginosa* II.CR.59 ,
un autre lot reçoit une souche hétérologue.

B/Résultats.

1°/Protection des souris vaccinées avec la souche II.CR.59
et infestées avec la souche homologue.

Les doses infestantes sont variables :

- + un lot de souris a reçu un DL 100.
- + un lot de souris a reçu deux DL 100.
- + un lot de souris a reçu cinq DL 100.

Les résultats obtenus prouvent que la protection est totale.
En effet, alors que cent pour cent des souris témoins, non vaccinées, meurent, celles qui ont été vaccinées sont protégées à cent pour cent contre une DL 100.

2°/ Pour les souris vaccinées avec la souche II.CR.59
puis infestées avec une souche hétérologue.

On constate qu'il existe aucune protection. La protection croisée n'existe donc pas, le vaccin est spécifique de la souche à partir de laquelle il est préparé.

Pour les résultats de ces vaccins monovalents voir
les figures XXII et XXIII.

FIGURE XXII

INFESTATION	TAUX DE MORTALITÉ EN POURCENTAGE		
	PSEUDOMONAS AERUGINOSA SOUCHE ICB.59.		
	LD ₁₀₀	2 LD ₁₀₀	5 LD ₁₀₀
VACCINÉES	0%	25%	56%
TÉMOINS	100%	100%	100%

FIGURE XXIII

INFESTATION	TAUX DE MORTALITÉ EN POURCENTAGE			
	PSEUDOMONAS AERUGINOSA SOUCHES :			
	59	154	157	167
VACCINEES Souche 59	0%	100%	100%	100%
TÉMOINS	100%	100%	100%	100%

II/ Vaccin Monovalent Purifié.

Deux ans après ces premiers résultats, LABORDE et FAJARDO ont cherché à purifier ce vaccin.

Ils ont essayé trois méthodes distinctes puis ont comparé les résultats obtenus avec chacune.

A/Préparation des vaccins.

1°/Méthode I.

- a) Les germes sont mis en suspension dans de l'eau distillée, à la concentration de quatre milligrammas par millilitre.
- b) Puis on ajoute de l'acide trichloracétique 0,5 N.
- c) Après douze heures à zéro degré et une centrifugation pendant trente minutes, le surnageant obtenu est dialysé contre de l'eau distillée et correspond aux vaccins des types :
A et
A1 s'il est chauffé à soixante cinq degrés pendant deux heures.

2°/Méthode II.

- a) Les germes sont mis en suspension dans une solution de phénol à un demi pour cent, à la concentration de deux milligrammes par millilitre.
- b) Après vingt quatre heures à trente sept degrés, cette suspension est centrifugée pendant trente minutes.
- c) Le surnageant est alors précipité dans $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ et le culot est dissous dans du tampon phosphate 0,2 N et dialysé contre ce même tampon.
- d) On obtient ainsi le vaccin des types :
E et
E1 s'il est chauffé à soixante cinq degrés pendant deux heures.

3°/Méthode III.

Elle a été décrite en 1951 par HEIDELBERGER, M/KENDALL, F.E.

Les germes sont mis en suspension dans du sérum physiologique

à la concentration de trente milligramme par millilitre.

Cette suspension est centrifugée et le culot obtenu est

dissous dans de l'acétone et de l'éther

puis de nouveau centrifugé; le précipité obtenu est desséché

puis réduit en poudre dans un mortier.

b) On ajoute alors du tampon acétate. Ce mélange est centrifugé.

Les deux parties obtenues sont traitées différemment:

+ le surnageant est dilué avec une solution de phénol,

il est dénommé : "Fraction Polysaccharidique". F

+ le culot est extrait avec du tampon phosphate, à 0,15 N

puis à nouveau centrifugé.

Le nouveau surnageant, additionné de phénol est

appelé : "Fraction Protéique". G

Ces deux types de vaccins, fraction Polysaccharidique et fraction

Protéique sont injectés séparément ou

mélangés à parts égales. Type H.

R/Résultats obtenus.

1°/

a) Pour chaque type de vaccin, les souris sont inoculées par

voie sous cutanée, à raison de trois doses de 0,2 millilitre

à deux jours d'intervalle.

b) Quarante jours après la dernière injection, les souris

reçoivent une dose létale à 100 de *Pseudomonas aeruginosa*.

2°/Le taux de mortalité observé pendant dix jours varie selon le type de vaccin utilisé.

a)Le type A donne une protection totale.S'il est chauffé, type A1,son activité est pratiquement nulle,dix pour cent de survivants.

b)Le type E apporte une immunité efficace,quatre vingt seize pour cent de survivants,alors que s'il est chauffé type E1,son activité est très réduite,taux de mortalité de soixante pour cent.

c)Des types F,G et H,seul le type F donne une protection statistiquement significative,quatre vingt sept pour cent de survivants.

Le type G est totalement inefficace.

3°/LABORDE et FAJARDO concluent que seuls les vaccins des types A et E doivent être choisis pour la vaccination.

Les résultats de ces expériences sont schématisés figure XXIV.

**PROTECTION DES SOURIS VACCINÉES CONTRE
UNE INFESTATION LD₁₀₀ DE LA SOUCHE II.CB.59 DE
PSEUDOMONAS AERUGINOSA [HOMOLOGUE AU VACCIN]**

VACCIN			POURCENTAGE DE SURVIVANTS	
METHODES DE PREPARATION	TYPE	CONCENTRATION INITIALE en mg/ml	VACCINÉES	TÉMOINS
Méthode I	A	4 mg	100%	0%
	A ₁	4 mg	10%	0%
Méthode II	E	2 mg	96%	0%
	E	2 mg	40%	0%
Méthode III FRACTION POLYSACCHARIDIQUE	F	30 mg	83%	0%
FRACTION PROTEINIQUE	G	30 mg	0%	0%
MÉLANGE DES DEUX A PARTIES ÉGALES [$\frac{1}{2} / \frac{1}{2}$]	H	30 mg	63%	0%

FIGURE XXIV

III Vaccin POLYVALENT.

La constatation de l'absence de protection des vaccins monovalents contre une souche hétérologue a conduit LAPORDE et FAJARDO, en 1968 à étudier l'immunité apportée par un vaccin polyvalent.

A/Techniques et Méthodes.

1°/

a) Le vaccin est préparé à partir de neuf souches de

Pseudomonas aeruginosa isolées de malades :

+ Six proviennent de l'Institut d'Hygiène de Montevideo

480

49 IH

94 65

60 18

40 37

78 87

+ Trois autres proviennent d'une autre source: 154

157

II.CB.10

b) Chacune des souches est tuée par une solution de phénol à 0,5 pour cent puis diluée afin d'obtenir une concentration égale à dix milligrammes par millilitre.

2°/ Deux protocoles expérimentaux sont testés :

a) Vaccination simple.

On pratique trois injections de 0,2 millilitre de vaccin à deux jours d'intervalle, puis cinq semaines après la dernière inoculation, infestation des souris avec une DI 100 de souches contenues (59, 157, 154, 94 65) ou non (72 F1) dans le vaccin.

b) Vaccination avec injection de rappel.

- + Trois lots, A B et C, de souris reçoivent par voie sous cutanée trois injections de 0,2 millilitre à deux jours d'intervalle, de vaccin polyvalent.
- + Trois jours après la dernière injection :
 - . le lot A reçoit, par voie sous cutanée 0,2 millilitre de vaccin polyvalent.
 - . le lot B est inoculé avec 0,2 millilitre d'une DL 100 d'une souche vivante de *Pseudomonas aeruginosa*, souche contenue dans le vaccin.
 - . le lot C reçoit, en intra péritonéal 0,2 millilitre d'une suspension de bactéries vivantes à dose subléthale.
- + Vingt jours plus tard, les trois lots sont infestés par une DL 100 de la souche 72 F1, non contenue dans le vaccin injecté.

B/Résultats obtenus.

1°/Vaccin polyvalent seul.

Il donne un bon degré d'immunisation, mais uniquement vis à vis des souches à partir desquelles il a été préparé. Quatre vingt pour cent des souris infestées par la souche 72 F1, non contenue dans le vaccin, meurent. Le taux de leurs anticorps agglutinants y est très faible.

2°/Vaccin polyvalent avec injection de rappel.

On constate que ce sont les lots B et C qui sont les mieux protégés. C'est à dire les lots qui ont reçu une injection de rappel de bactéries vivantes.

Chez ces animaux, la protection est croisée : le vaccin donne un bon degré d'immunisation même vis à vis des souches

non incluses dans le vaccin.

Enfin le taux des anticorps y est élevé quelque soit la souche infestante.

IV/ Au terme de cette étude, LABORDE et FAJARDO insistent sur l'utilité d'un tel vaccin polyvalent pour protéger les brûlés contre les infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Ce vaccin devrait être préparé à partir de différentes souches pathogènes isolées des services de brûlés et de chirurgie.

Ils pensent important de connaître le titre des tests d'agglutination du sérum des malades afin de pouvoir définir le degré d'immunité du malade à vacciner.

== SERUM HYPERIM. UNISE de lapin.

I. Techniques et Méthodes.

A/Préparation d'un sérum polyvalent

A partir des neuf souches précédemment étudiées et toutes isolées de malades.

Les souches sont tuées par addition de phénol.

B/Immunisation des lapins.

1°/Les sérum anti-Pseudomonas aeruginosa est obtenu à partir de lapin ayant reçu, par voie sous cutanée dans le haut des flancs, un millilitre de vaccin polyvalent, trois fois par semaine puis tous les jours pendant la quatrième semaine.

2°/Huit jours après la dernière injection, on prélève le sang par ponction cardiaque. Le sérum obtenu est fractionné par électrophorèse afin d'extraire les gamma globulines.

C/Le protocole expérimental a pour but d'étudier l'antisérum de lapin. Les auteurs ont pratiqué de quatre façon différentes :

1°/Lot A.

Il reçoit deux doses d'antisérum.

+ Inoculation de 0,2 millilitre d'antisérum par voie intra péritonéale.

+ Seize heures après on renouvelle la même injection.

+ Deux heures après, les souris sont infestées par une souche de *Pseudomonas aeruginosa* homologue ou hétérologue, à une dose létale.

2°/Lot B.

Il reçoit trois doses d'antisérum.

+ Même protocole que pour le lot A

+ mais quatre heures après la dose infestante, les souris reçoivent, en sous cutané, la troisième injection d'antisérum.

3°/Lot C.

Il reçoit cinq doses d'antisérum.

Le protocole est le même que pour le lot B,
+ mais une quatrième dose d'antisérum est injectée cinq
jours après l'infestation
et la cinquième dose dix jours après l'infestation.

4°/Le lot D.

Il est inoculé comme le lot B, c'est à dire trois injections,
mais le sérum hyperimmunisé est remplacé par des gamma
globulines purifiées.

voir la figure XXVI pour avoir une vue d'ensemble du
protocole expérimental.

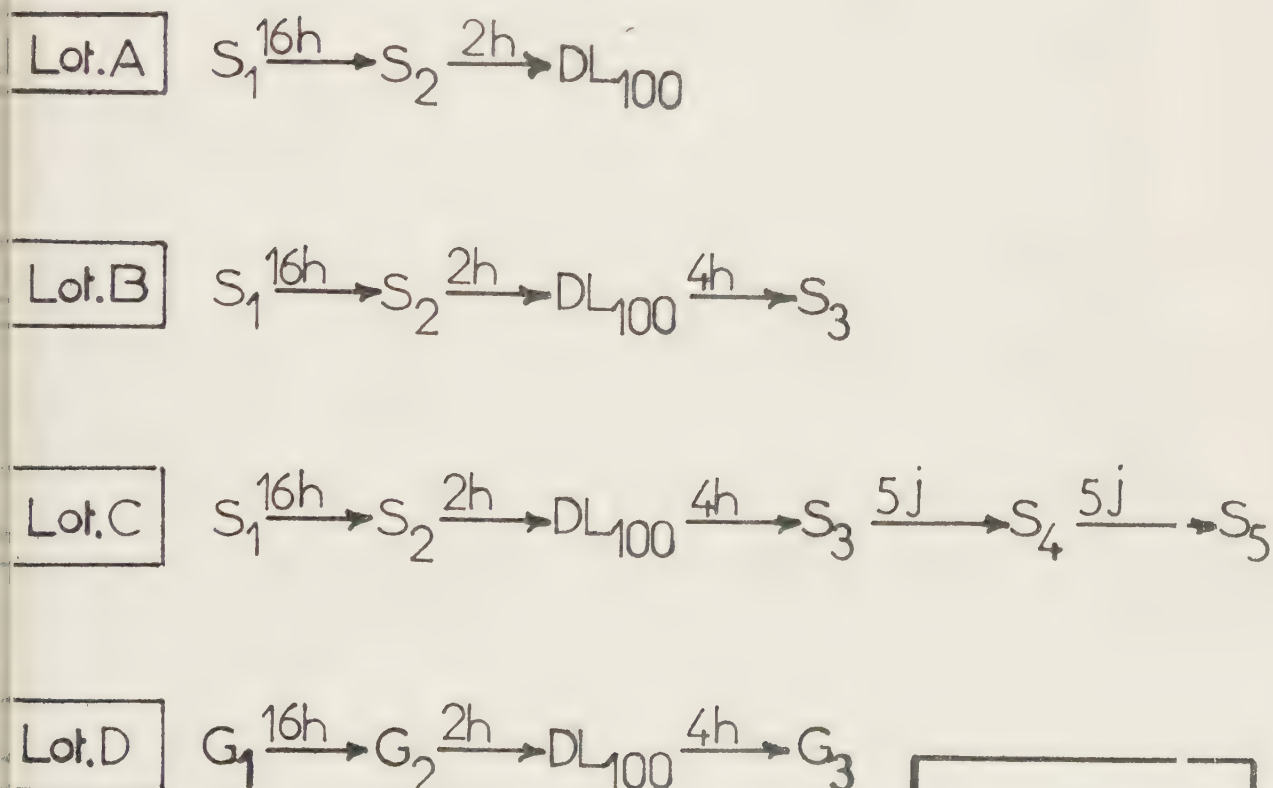


FIGURE XXVI

II Résultats obtenus.

A/Lot A.

Il a reçu deux doses d'antisérum avant l'infestation par une souche homologue ou hétérologue (72F1).

On constate une très bonne protection puisqu'on observe cent pour cent de survivants dix jours après l'infestation.

B/Lot B.

Chez ces souris ayant reçu Trois doses d'antisérum et infestées par une souche homologue ou hétérologue, on observe également cent pour cent de survivants dix jours après l'infestation .

Le taux d'anticorps de ces souris est étudié pendant vingt deux jours et une courbe est établie, voir la figure XXVII, Il est intéressant de noter qu'il n'y a pas de différence significative dans le taux d'agglutination vis à vis des souches homologues ou hétérologues. Le taux maximum est atteint seize à quarante huit heures après le début du traitement.

Il diminue nettement après le huitième jour et est nul vingt deux jours après.

Ces chiffres permettent d'expliquer que si cent pour cent des souris survivent au dixième jour, on enregistre de nombreux décès après cette période.

C/Lot C.

Il a reçu cinq doses d'antisérum.

On observe également cent pour cent de survie au dixième jour.

Contrairement aux lots A et B, ce résultat persiste au vingtième jour.

L'étude du taux des anticorps agglutinants montre qu'il existe un pic maximum du sixième au onzième jour après le

TITRE D'AGGLUTINATION

Des souris ayant reçu :

- 3 doses de sérum hyperimmunisé puis infectées par une souche homologue
- - - 3 doses de sérum hyperimmunisé puis infectées par une souche hétérologue
- 5 doses de sérum hyperimmunisé puis infectées par l'une ou l'autre souche

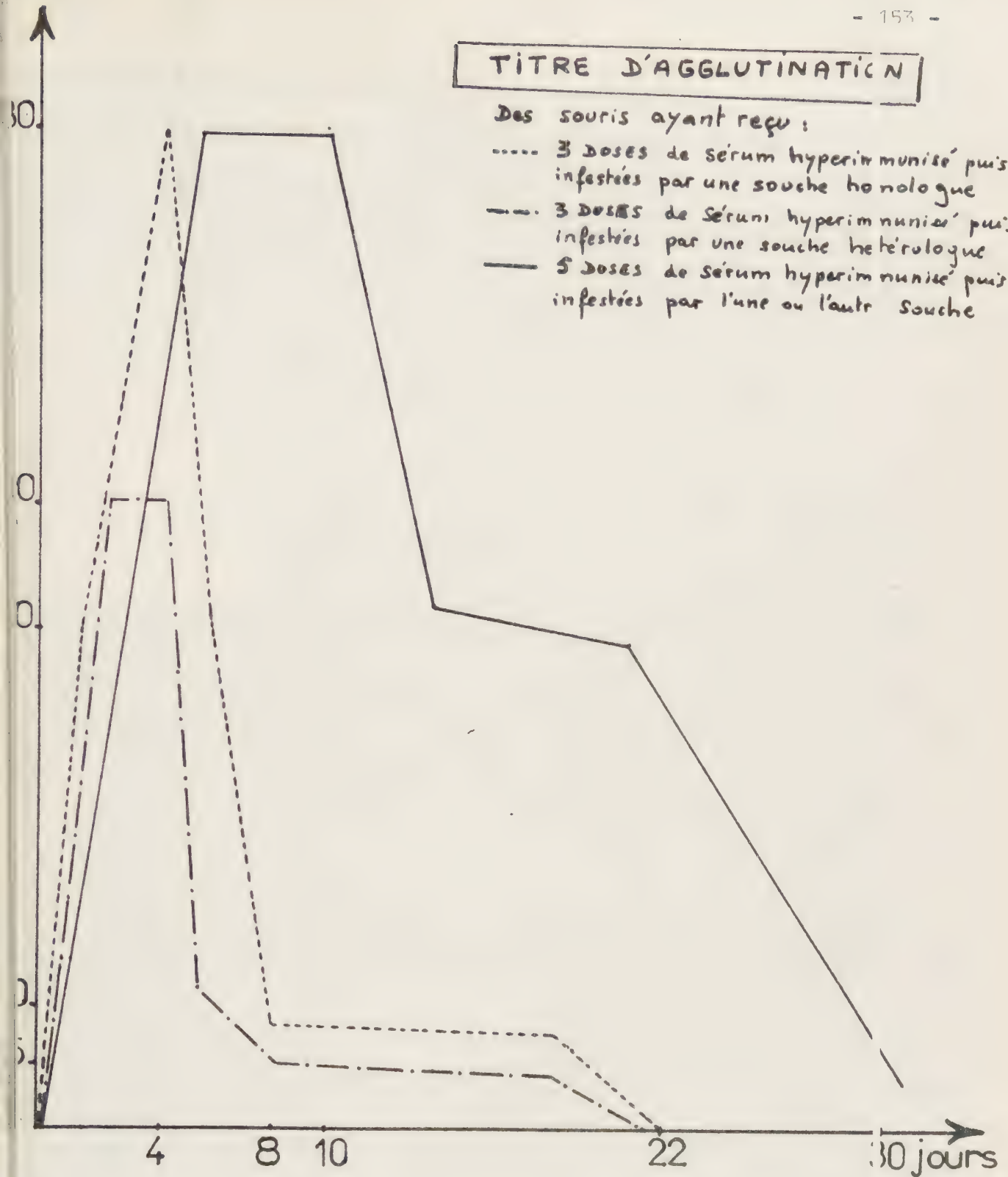


FIGURE XXVII

début du traitement et
un taux important persiste jusqu'au vingtième jour.
Un mois après, le taux n'est pas encore nul.

D/Lot D.

Chez ces souris ayant reçu trois doses de gamma globulines
la protection est médiocre, même si l'infestation a été
faite avec une souche homologue.

== Au total.

Cette étude indique que la vaccin tué, anti-Pseudomonas aeruginosa
administré au lapin, induit la formation d'anticorps agglutinant
contre les souches homologue et hétérologues.

L'injection de cinq doses d'antisérum permet de protéger à cent
pour cent les souris pendant plus de vingt jours. Les animaux,
en bonne santé, sont sacrifiés quatre mois après l'infestation,
aucune lésion n'a été constatée.

En outre les animaux survivants après le vingtième jour sont
immunisés contre une nouvelle infestation que ce soit par une
souche homologue ou une souche hétérologue. LABORDE et FAJARDO
supposent que dans ce cas la première infestation agit comme
un vaccin et non comme une DL 100.

Ceci est confirmé par le fait que des souris non vaccinées, mais
survivant à une inoculation de Pseudomonas aeruginosa vivants,
deviennent quinze à vingt jours après, immunisées contre une
nouvelle infestation, qu'elle soit homo ou hétérologue à la
première.

COMPARAISON des résultats obtenus chez les
souris ayant reçu du SERUM HYPERIMMUNISÉ,
des GAMMA GLOBULINES et VACCIN POLYVALENT

	POURCENTAGE de SURVIVANTS			
	10 ^e jour	20 ^e jour	10 ^e jour	
	souche homologue 157		souche hétérologue 72 F ₁	L ₁₀
sérum hyperimmunisé 2 doses=lot A	100%	90%	100%	100%
3 doses=lot B	100%	91%	100%	100%
5 doses=lot C	100%	100%	100%	100%
gamma globulines =lot D	55%		30%	30%
vaccin polyvalent	90%		20%	20%
TEMOINS	0%		0%	0%

FIGURE XVIII

Enfin,LABORDE,H.F. et FAJARDO,C.L. concluent en pensant poursuivre leurs recherches sur le sérum hyperimmunisé,car c'est le seul qui confère une immunité quelque soit la souche infestante.Et également,son activité na dépend pas de mécanismes immunologiques qui,chez certains malades peuvent être altérés.

Cinquième Chapitre.

EXPERIMENTATIONS
HUMAINES

Deux équipes de chercheurs ont essayé, avec succès, la
vaccination et la séro thérapie pour lutter contre
Pseudomonas aeruginosa
chez les brûlés.

Il s'agit de FELLER, I. et Coll.

et de ALEXABDER, J.W. et FISCHER, W. et Coll.

Cinquième Chapitre , Première Etude.

Travaux de FELLER, I. et Coll.

Université de MICHIGAN
U.S.A.

Depuis 1965, FELIER et Coll. ont administré à des brûlés un vaccin et du plasma hyperimmun.

I/ TECHNIQUE.

A/ Les Malades choisis.

Tous sont des brûlés graves. Ils ont, soit une brûlure très profonde entraînant une perte de substance supérieure à quarante pour cent soit une brûlure dont l'étendue est égale à vingt pour cent de la surface corporelle.

Seuls les brûlés survivant au sixième jour font partis de ce compte rendu.

B/ Préparation du Vaccin.

Le vaccin est obtenu à partir d'une suspension de *Pseudomonas aeruginosa* tués par la chaleur et le phénol.

Les germes sont isolés à partir des brûlures ou du sang des malades.

1° Essai sur l'animal.

Des lapins reçoivent le vaccin par voie sous cutanée au niveau des flancs, puis sont infectés en intra veineux par des germes vivants.

On constate que quatre vingt pour cent d'entre eux sont protégés alors que dans le lot témoin, il n'y a que quinze pour cent de survivants.

On observe que le taux maximum d'anticorps se situe à la quatrième semaine.

b) Essai chez l'homme.

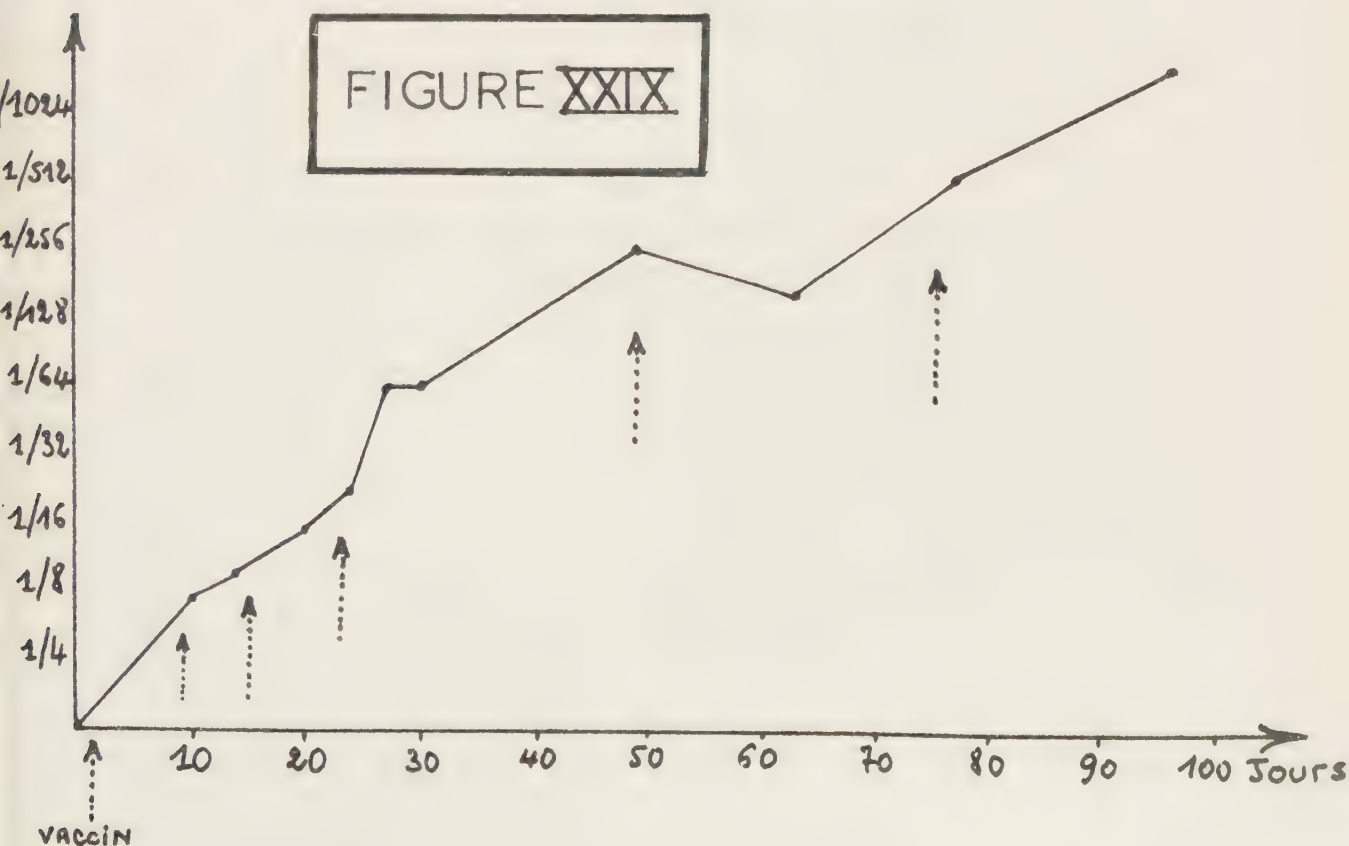
FELLER et Coll. vaccinent des volontaires. Ils reçoivent un demi millilitre de vaccin, correspondant à $1,2 \cdot 10^6$ germes tués par millilitre,

Les auteurs étudient la réponse immunologique de l'homme ils constatent que le taux des anticorps est inférieur à celui observé chez les lapins. Mais FELLER et Col. pensent que cette différence peut être attribuée à la quantité injectée, dose plus faible que chez l'animal.

La figure XXIX, représente la variation des taux d'anticorps. Il est important de noter que le taux reste élevé grâce à des injections répétées de vaccin.

Lorsque le taux d'anticorps des volontaires atteint un cinq cent douzième, leur plasma est prélevé.

Le plasma prélevé est conservé jusqu'à ce qu'il soit injecté à des brûlés.



3°/Plasma hyperimmun.

- a) L'essai sur lapin prouve qu'il donne une bonne protection s'il est injecté deux à vingt quatre heures avant infestation.
- b) Il est préparé par injection de vaccin à des volontaires.
- Leur plasma, contenant un taux d'anticorps de un cinq cent douzième est administré en intra veineux à raison de :
- Deux cent cinquante centimètre cubes par jour, chez l'adulte.
 - Cent vingt cinq centimètre cubes par jour aux enfants agés de moins de quatorze ans.

II/ RESULTATS.

A/ Etude du titre d'agglutination.

Etude faite sur trois malades présentant des brûlures de gravité variable. Nous pensons intéressant de rapporter ces observations.

1°/ Brûlé agé de quarante sept ans. Brûlure de onze pour cent de la surface corporelle. figure XXX.

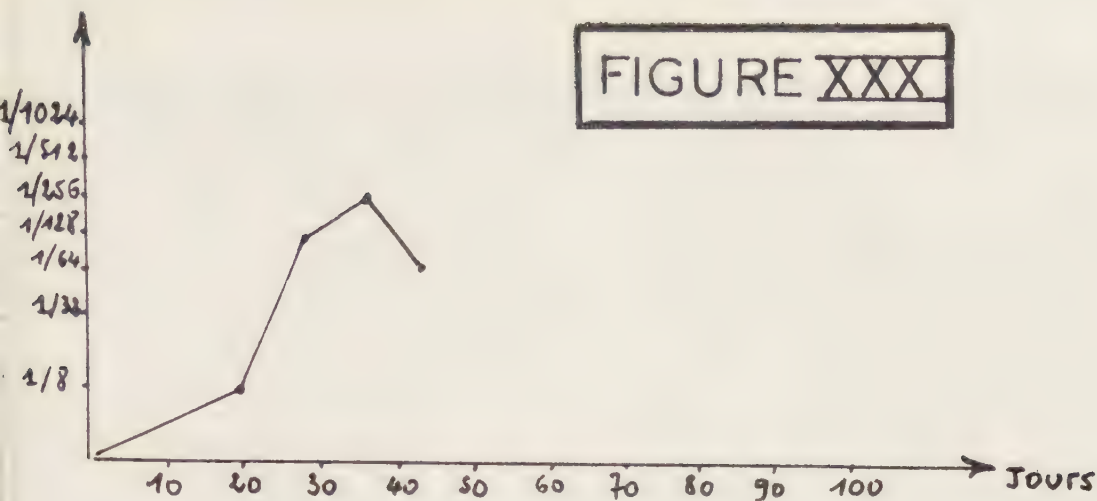
On observe une ascension du taux d'anticorps avec un maximum de un deux cent cinquante sixième le trentième jour

après cicatrisation des plaies le taux diminue.

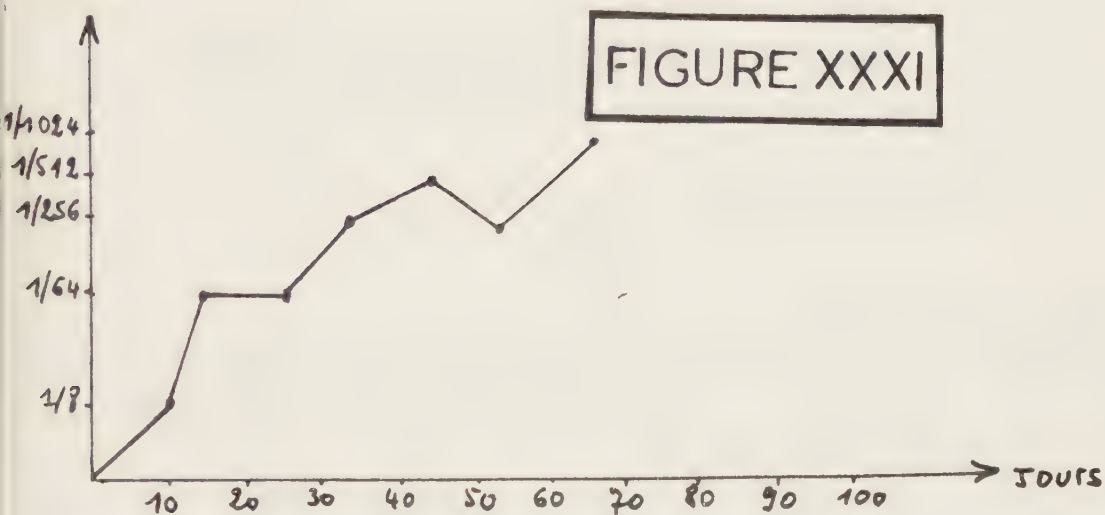
2°/ Brûlé de vingt neuf ans. Brûlure de trent cinq pour ce nt

Le taux d'anticorps croit progressivement, atteint un deux cent cinquante sixième le trentième jour,

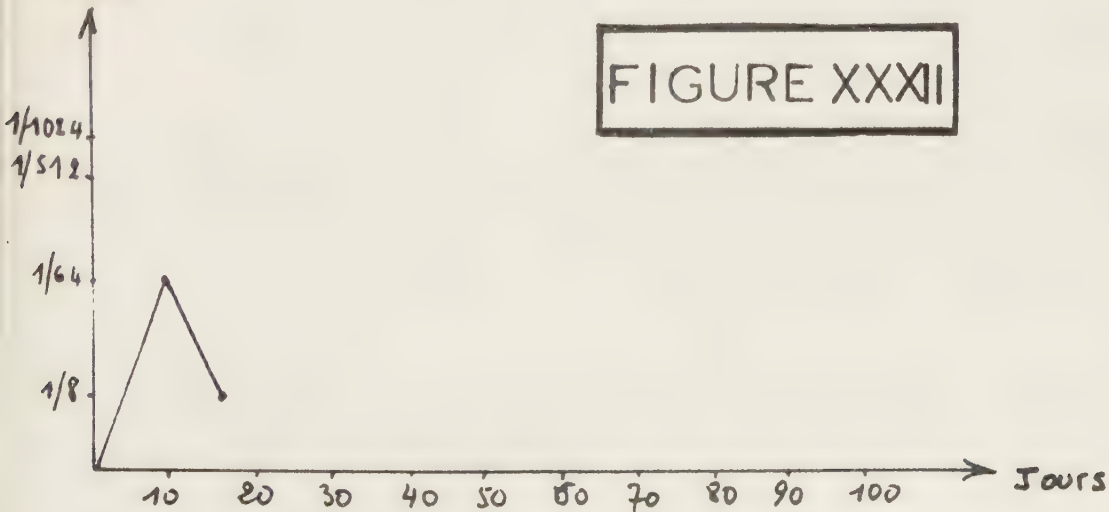
TITRE



TITRE



TITRE



est maximum à un mille vingtquatrième le soixantième jour.
Le taux reste élevé jusqu'à ce que la brûlure soit
recouverte de greffes de peau
alors il diminue.
Ce malade, grâce à une protection efficace a survécu à ses
brûlures.
voir figure XXXI.

3°/ Enfant de deux ans, brûlé à cinquante cinq pour cent de la
surface corporelle.

Les premiers jours, le taux d'anticorps croît mais
s'effondre avant le dixième jour.
Cet enfant incapable de se défendre meurt, par septicémie
le quatorzième jour.
voir figure XXXII.

B/Immunisation de l'homme.

Echelonnés sur trois ans FELLER et Coll. ont étudiés cent soixante
cinq cas: - Quarante et un servent de témoins, ils n'ont pas
été vaccinés.

- Vingt quatre ont été uniquement vaccinés.
- Cent ont reçu vaccin et plasma hyperimmun.

Le Vaccin est administré une fois par semaine à la dose de un
demi millilitre jusqu'à cicatrisation des plaies.

Le sérum hyperimmunisé est administré à raison de :

deux cent cinquante centimètre cubes par jour chez l'adulte.
cent vingt cinq centimètre cubes par jour chez l'enfant de
moins de quatorze ans.

Un résumé de ces cent soixante cinq cas se trouve figure XXXIII.

C/Plusieurs conclusions peuvent être tirées de ces traitements:

1°/Le taux de mortalité

S'il est de quarante quatre pour cent chez les témoins;
il s'abaisse à trente huit pour cent chez les malades
seulement vaccinés,

il est à vingt pour cent chez les brûlés vaccinés et a
ayant reçu du sérum hyperimmunisé.

Il faut noter que les brûlés non vaccinés n'ont survécu
que dix huit jours alors que les traités ne sont morts
que vers le trente deuxième jour.

2°/La durée d'hospitalisation des survivants.

Dans le lot des témoins elle est de cent six jours en
moyenne.

Elle passe à quatre vingt chez les brûlés ayant reçu
vaccin et sérum hyperimmunisé.

3°/Parmi les témoins, soixante et onze pour cent ont été
atteints de septicémie,
vingt quatre pour cent seulement des sujets immunisés
l'ont été.

Pseudomonas aeruginosa était le germe responsable de
ces septicémies pour ; soixante douze pour cent chez
les témoins, dix neuf pour cent chez les
brûlés immunisés.

Ces résultats prouvent que l'association du vaccin au
sérum hyperimmunisé a permis de protéger les brûlés
non seulement de *Pseudomonas aeruginosa*, mais aussi
des autres germes gram négatif.

4°/Les auteurs insistent sur l'importance de certains facteurs:
profondeur et importance des brûlures, âge des brûlés.

TRAITEMENT des BRULÉS par VACCINATION et PLASMA HYPERIMMUNISÉ (FELLER 1968)

	TÉMOINS	VACCIN seul	PLASMA + VACCIN
NOMBRE de MALADES	41	24	100
MOYENNE d'ÂGE	26 ans	24 ans	24 ans
% MOYEN de SURFACE CORPORELLE BRULÉE	51 %	40 %	44 %
% MOYEN de PERTE de SUBSTANCE	38 %	31 %	32 %
<u>SURVIVANTS</u>			
% SURVIVANTS	56 %	62 %	80 %
MOYENNE d'ÂGE	20 ans	26 ans	22 ans
DURÉE d'HOSPITALISATION	106 jours	74 jours	80 jours
% MOYEN SURFACE BRULÉE	43 %		44 %
% MOYEN PERTE SUBSTANCE	33 %	26 %	28 %
<u>MORTS</u>			
% MORTS	44 %	38 %	20 %
MOYENNE d'ÂGE	34 ans	26 ans	40 ans
MOYENNE DE SURVIE	18 jours		32 jours
% MOYEN PERTE SUBSTANCE	46 %	40 %	47 %
% MORTS PAR SEPTICÉMIES	88 %	100 %	100 %
<u>SEPTICÉMIES</u>			
% DE CAS	71 %	75 %	24 %
% DE MORTALITÉ	39 %		11 %
% DE SEPTICÉMIES à PSEUDOMONAS aeruginosa	72 %	39 %	21 %

FIGURE XXXIII

III Au total.

Cet essai thérapeutique prouve que l'injection de sérum hyperimmunisé associée à une vaccination répétée donnent une protection efficace contre les septicémies à *Pseudomonas aeruginosa* survenant chez les brûlés, malades aux défenses immunitaires souvent très affaiblies

Cependant FELLER, I. et ses Collaborateurs rappellent que cette thérapeutique n'exclut pas les soins de nursing, les précautions de strérilité et l'antibiothérapie.

Seule l'association de toutes ces mesures peut faire espérer un recul de la mortalité dans les services de réanimation et de grands brûlés.

Cinquième Chapitre , Deuxième Etude.

Travaux de ALEXANDER,J.W. et FISCHER,W.

Université de CINCINNATI.

Ces auteurs ont injecté à quarante brûlés un vaccin heptavalent préparé à partir de *Pseudomonas aeruginosa* tués.

Parmi dix sept de ces malades, longtemps suivis, un seul a présenté une hémoculture transitoirement positive. Alors que sur dix huit brûlés témoins, non vaccinés, sept eurent une septicémie à *Pseudomonas aeruginosa* dont cinq furent mortelles.

Nous allons essayer de résumer les travaux de ces chercheurs.

T. RECHERCHES.

A/Les quarante brûlés étudiés ont tous une brûlure couvrant plus de vingt pour cent de la surface corporelle.

Avant de procéder à la vaccination, ALEXANDER et FISCHER pratiquent une injection intra dermique de 0,85 micro gramme d'antigène de Pseudomonas aeruginosa afin d'exclure une possible réaction allergique ; aucune ne fut observée.

B/Le VACCIN.

Les auteurs ont étudié les souches de Pseudomonas aeruginosa prélevées sur des malades, afin d'en préciser les différents sérotypes.

Après plusieurs essais sur animaux, ils sélectionnent sept sérotypes dont l'association apporte une protection contre quatre vingt dix sept pour cent des souches de Pseudomonas aeruginosa.

Le vaccin heptavalent utilisé est préparé à partir de ces sept souches tuées par la chaleur et le phénol.

C/Protocole expérimental.

Deux groupes de malades sont individualisés .

1°/Groupe I.

Il reçoit en intra musculaire une préparation "placebo" dont le rythme et le volume des injections sont en tous points comparable au vaccin.

2°/Groupe II.

Il est vacciné, par inoculation en intra musculaire de 4,3 à 11,1 micro grammes par kilogrammes de poids et par injection.

La première injection doit être faite le plus tôt possible après la brûlure, en pratique dès l'admission à l'hôpital. Les deux suivantes sont faites à quatre jours d'intervalle.

2°/ Sur chaque brûlé, l'étude du taux d'anticorps est faite :

- . avant la vaccination,
- . entre chaque injection,
- . puis toutes les semaines.

Parallèlement, des hémocultures sont faites

tous les *Pseudomonas aeruginosa* isolés sont typés.

II. RÉSULTATS.

Nous envisagerons successivement :

- les réactions de toxicité.
- les taux d'anticorps.
- la protection anti-infectieuse.

A/Réactions de toxicité.

Après avoir injecté aux premiers brûlés des doses d'antigène de 4,3 à 11,1 microgrammes par kilogramme et par injection les auteurs augmentent les doses jusqu'à 22 microgrammes par kilogramme.

Aucun malade n'a présenté de réaction locale ni de fièvre.

Aucune toxicité n'est observée.

B/Taux d'anticorps.

L'étude est faite pour les sept sérotypes.

1°/ Les brûlés qui ont été vaccinés avant le sixième jour qui suit la brûlure, ont un taux d'anticorps élevé vis à vis

des sept sérotypes.

Le taux croit dès l'injection,
atteint vingt le quatrième jour,
le huitième jour on note un pic maxima à six cent quarante.
La décroissance est rapide pour tous les sérotypes à
l'exception du Type 0:2 . Au vingtième jour, on observe un
taux de quatre vingt contre un taux nul pour les autres.
Le taux du Type 0:2 continue à croître, il est de
mille deux cent quatre vingt le quarante huitième jour.

2°/ Les sujets vaccinés après le sixième jour n'ont pas de
réaction d'immunisation qui soit statistiquement significative.

C/

1°/ Il existe une relation étroite entre le développement d'une
septicémie et le taux d'anticorps circulants.

L'observation suivante le montre bien ;

du premier au seizième jour suivants la brûlure, le taux
d'anticorps du Type 0:1 est particulièrement élevé,
au trentième jour le taux de ce même Type est à cent
soixante.

Ce brûlé fait une septicémie, l'hémoculture est positive
pour un germe de ce Type 0:1 .

Le taux d'anticorps continue à croître et atteint deux
mille cinq cent soixante le trente cinquième jour.

A cette période, une nouvelle septicémie se déclare,

Le germe responsable est de Type 0:3 .

Le taux d'anticorps pour ce Type est resté constant
à vingt.

Cette deuxième septicémie est foudroyante, le
brûlé décède en trois jours.

2°/Certains malades ont reçu la même dose d'antigène,immédiatement après brûlure,
mais,non pas en intra musculaire,mais par voie intra dermique.

Dans ce cas,le taux d'anticorps croit mais ne dépasse pas quatre vingt pour le Type 0:4 , et reste inférieur à cinq pour plusieurs autres Types.Ce qui fait augmenter le risque d'infection par ces Types.

3°/ALEXANDER et FISCHER ont comparé

d'une part,les taux obtenus lors d'une immunisation précoce par rapport à une immunisation tardive,
d'autre part les taux observés avant immunisation par rapport à ceux observés après

Les résultats sont rassemblés dans les figures XXXIV et XXXV.

On constate que le taux le plus élevé est observé avec le Type 0:2 ,que ce soit avant ou après vaccination où le taux est alors de mille.

Les auteurs insistent sur la corrélation qui apparait entre les taux et la fréquence des septicémies.En effet les brûlés qui présentent une telle infection ont un taux d'anticorps pour le Type correspondant inférieur à quarante.

D/Protection contre l'infection.

Deux groupes de malades sont comparés :

- Groupe A,il comprend dix sept brûlés.
 - . douze sont vaccinés immédiatement.
 - . cinq le sont après le sixième jour.
- Groupe B,il est de dix huit brûlés.
 - . treize reçoivent le "placebo" immédiatement.
 - . cinq le reçoivent après le sixième jour.

1°/Groupe A.

Parmi les dix sept malades vaccinés, un seul a présenté une hémoculture positive le quatrième jour après le début de l'immunisation, mise en route après le sixième jour. Par la suite les hémocultures se sont négativées, ce brûlé a survécu.

Dans ce groupe, tous ont survécu, cent pour cent.

un seul a présenté une septicémie "transitoire" parmi ceux vaccinés tardivement.

aucune septicémie dans le groupe vacciné précocement.

2°/Groupe B.

Par contre dans ce lot, sur dix huit,

sept ont été infectés,

un seul a survécu,

deux sont morts d'une pneumonie à *Pseudomonas aeruginosa* et quatre d'une septicémie.

Il y a donc bien une corrélation étroite entre ;

le taux d'anticorps et

le développement de l'infection. Tous les brûlés ayant eu une septicémie par *Pseudomonas aeruginosa* ont des taux d'anticorps variant de cinq à quarante.

Le brûlé du groupe A, vacciné tardivement et qui a survécu à la septicémie, avait un taux d'anticorps de six cent quarante.

Ces expériences mettent bien en évidence l'immunisation apportée par le vaccin polyvalent qui contient les antigènes des principaux Types de *Pseudomonas aeruginosa* rencontrés le plus souvent.

COMPARISON des TAUX d'ANTICORPS obtenus: selon la date de vaccination

taux	date de 6 ^{ème} jour	vaccination après 6 ^e jour
témoins	50	80
malades	225	90

FIGURE XXXIV

TAUX d'ANTICORPS obtenus pour chaque sérotypage : avant et après vaccination

sérotypes	avant vaccination	après vaccin fait avant 6 ^e jour
1	< 5	250
2	90	1000
3	< 5	380
4	5	400
5	< 5	130
6	< 5	120
7	< 5	220

FIGURE XXXV

E/ Un essai complémentaire a été effectué sur dix huit autres brûlés.

1°/ Chez quatorze d'entre eux, aucune infection n'a été révélée, ils ont guéri normalement.

2°/ Quatre par contre sont décédés.

Il nous semble intéressant d'en préciser les circonstances
a) Premier brûlé.

Agé de onze ans, brûlé à soixante pour cent.

Il a reçu le quatrième jour le vaccin à raison de 7,6 microgrammes par kilogramme en sous cutané.

Il est mort le vingt sixième jour d'une septicémie à *Pseudomonas aeruginosa*. Le taux d'anticorps correspondant au Type infestant était inférieur à quatre vingt.

b) Deuxième.

Agé de deux ans, brûlé à vingt trois pour cent .

Brûlures aprticulièremment profondes à la tête et au nez.
Il est hospitalisé sept jours après sa brûlure.

Il a alors une septicémie à *Aerobacter aerogenes*.

Huit jours après, soit au seizième, l'hémoculture révèle une septicémie à *Pseudomonas aeruginosa*.

Il décède le dix huitième jour.

Il avait reçu, en sous cutané une dose d'antigène égale à 10,2 microgrammes par kilogrammes.

On a constaté que le taux d'anticorps correspondant au Type infestant, était toujours resté nul.

c) Troisième.

Agé de quatorze ans, brûlé à cinquante cinq pour cent.

Il est vacciné le sixième jour, en sous cutané à raison

de 7,25 micro grammes par kilogramme.

Quarante jour après, il meurt d'une septicémie à *Pseudomonas aeruginosa*.

Chez lui aussi, le taux d'anticorps est resté très faible.

d) Quatrième.

Agé de soixante ans, brûlé à soixante neuf pour cent.

Il a reçu l'antigène par voie intra musculaire à raison de 11,4 microgrammes par kilogramme de poids le quatrième jour.

La réponse immunitaire est toujours restée très faible.

Ce brûlé est décédé d'une septicémie le vingtième jour.

3°/En conclusion.

Sur ces dix huit nouveaux cas,

quatorze ont été protégés contre une surinfection grave à *Pseudomonas aeruginosa*.

Ces faits démontrent bien la protection apportée par la vaccination anti-*Pseudomonas aeruginosa*, par vaccin polyvalent.

III CONCLUSIONS.

Si l'immunisation est pratiquée avant le sixième jour suivant la brûlure, on augmente les chances de protection efficace, sauf si les possibilités de réponse immunitaire du malade restent basses jusqu'au dixième jour qui suit la l'agression. ALEXANDER et FISCHER insistent sur l'importance de la précocité de cette vaccination. En effet dans tous les cas de blessés vaccinés après le sixième jour, leur réponse immunitaire a

toujours été faible et par conséquence, ces brûlés ont été moins bien protégés.

ALEXANDER et FISCHER ont également montré la nécessité de pratiquer des injections de rappel hebdomadaires, afin de maintenir un taux d'anticorps élevé.

Les auteurs ne voient aucune contre indication à pratiquer de telles vaccinations. Jamais aucune réaction allergique ou toxique n'a été observée.

CONCLUSIONS de Notre Etude

De l'étude, non exhaustive, que nous

venons de faire sur l'état actuel des recherches concernant la mise au point de VACCINS et de SERUMS HYPERIMMUNISES utilisables pour la lutte anti-Pseudomonas aeruginosa se dégagent plusieurs éléments.

1°/ Il est possible d'affirmer que les processus de réaction de l'organisme, vis à vis de Pseudomonas aeruginosa, se produisent suivant les lois générales et habituelles de l'immunologie.

2°/ Le fractionnement de Pseudomonas aeruginosa en cinq fractions est possible.

La structure, le rôle pathogène et les possibilités antigéniques de chacune de ces fractions sont précisés.

3°/ Obtenir des vaccins et des sérums hyperimmunisés, protecteurs efficaces, est possible.

Il faut toutefois rappeler qu'il n'y a pas de protection croisée entre les différents Types sérologiques.

La protection vaccinale est spécifique d'un Type sérologique donné.

L'objectif demeure l'obtention d'un vaccin polyvalent.

L'efficacité de tels vaccins et sérums hyperimmunisés

a été largement établi chez l'animal, souris.
Les premiers essais effectués chez l'homme, s'ils sont encore
peu nombreux, s'avèrent très encourageants et imposent la
 poursuite de ces recherches.

Si notre étude a porté sur l'utilisation de tels vaccins et
sérums hyperimmunisés chez les brûlés, il ne faut pas
oublier d'autres secteurs de la pathologie où de tels produits
seraient hautement appréciés.

Rappelons: La Gynécologie Obstétrique; avec le lourd problème des
infections du post-partum et du post-abortum, et
surtout celui des porteuses de *Pseudomonas aeruginosa*
chez qui toute grossesse parvient difficilement
à terme où donne naissance à un enfant sain.

Les Unités de Réanimation, où les malades sont particulièrement
fragiles, souvent sous respiration assistée, avec
en général une trachéotomie, large porte d'entrée
à l'infection, aux germes hospitaliers particulièrement
résistants, tout spécialement *Pseudomonas aeruginosa*.

Les Services d'Insuffisants Respiratoires Chroniques,
souvent transfuges des unités de réanimation,
parfois porteurs de trachéotomie définitive .
Les malades, toujours hypersécrétants, à l'état
général souvent mauvais, sont les victimes fréquentes
de la surinfection à *Pseudomonas aeruginosa*.

Infection qui nous est apparue souvent longtemps
assez bien supportée, mais qui, indéniablement
fragilise ces malades. Elle les installe avec des
défenses immunitaires très affaiblies. Le moindre
déséquilibre respiratoire aggrave le pronostic
vital de façon rapide.

De larges possibilités de recherches restent
ouvertes pour continuer cette double étude de l'immunité
active et de l'immunité passive.

Il faut encore purifier, augmenter l'efficacité et la
spécificité des Vaccins et Sérums Hyperimmunisés
anti-*Pseudomonas aeruginosa*, les améliorer afin d'en faire
des instruments efficaces contre la maladie et ainsi voir
diminuer la souffrance de l'Homme.

—°—

B I B L I O G R A P H I E .

Notre bibliographie est composée de deux parties;

la première regroupe les références des articles
ayant servi à notre travail.

la deuxième est constituée des références de divers
articles et ouvrages ayant trait au
Pseudomonas aeruginosa.

- 1 ALEXANDER, J.W./Brown, W./Walker, H./Mason, A.D./Moncrief, J.A.
Studies on the isolation of an infection protective antigen
from *Pseudomonas aeruginosa*.
Surg.Gynecol.Obst.USA. (nov 1966) CXXIII n°5 , 965-977.
- 2 ALEXANDER, J.W./Fisher, M.W./MacMillan, B.G./Altemeier, W.A.
Prevention of invasive *Pseudomonas* infection in burns
with a new vaccine.
Arch.Surg. (août 1969) IC , 249-256.
- 3 ALEXANDER, J.W./Moncrief, J.A.
Immunologic phenomena in burn injuries.
J.A.N.A. (23 janv 1967) CIC n°4 , 257-260.

The control of infection in severaly burned patients.
Surg.Clin.N.Amer. (oct 1967) XLVII , 1039-1048.
- 5 ALMS, T.H.
Isolation of a protective antigen from *Pseudomonas aeruginosa*.
Cissert.Abstr.B.USA. (1967) XXVIII n°3 , 1027.
- 6 ALMS, T.H./Bass, J.A.
Mouse protective antigen from *Pseudomonas aeruginosa*.
Texas.Rep.Biol.Med. (1965) XXIII n°3 , 140.

Induction of protection by an alcohol-precipitated
fraction from the slime layer.
J.Infect.Dis. (juin 1967) CXVII n°3 , 249-256.
- 8 Purification and characterization of the protective
factor from the alcohol-precipited fraction.
J.Infect.Dis. (juin 1967) CXVII n°3 , 257-264.

9 BALCH,H.H./Watters,M./Kelley,D.

Resistance to infection in burned patients.

Ann.Surg. (janv 1963) CLVII n°1 , 1-19.

10 Septicemia in burned patients.

Ann.N-Y.Acad.Sci. (14 août 1966) CLVIII , 991-1000.

11 BAUX,S.

Schéma général du traitement des grands brûlés.

G.M.France. (3 nov 1967) 5523-5528.

12 BRUNIQUEL,G.

Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* en gynécologie
et en obstétrique.Problèmes biologiques et thérapeutiques.

Vie.Med. (nov 1967) XLVIII n°9 , 1515-1516.

13 CARNEY,S.A./Jones,R.J.

Biological and immunochemical properties of culture
filtrates of virulent and avirulent strains of P.a.

The British J.Exp.Path.(oct 1968) XLIX n°5 , 395-410.

14 CHRISTIE,R.

Biochemical & serological characteristics of *P.aeruginosa*.

Aust.J.Exp.Biol.Med.Sci. (1948) XXVI , 425-447.

15 CLARKE,K./Gray,G.W./Reaveley,D.A.

The extraction of cell wall of *P.aeruginosa* with phenol.

Biochem.J. G-B. (1967) CV n°2 , 759-765.

16 DUMAS

Bactériologie médicale.

ed Flammarion. 469-475.

- 17 DURLIUX, R./Bret, A.J.
Méningites néo-natales.
Rev.Franç.Gynéc. (1963) LVIII n°9 , 619-624.
- 18 Pseudomonas aeruginosa et avortements spontanés.
Rev.Franç.Gynéc. (1967) LXII n°9 , 451-462.
- 19 Avortement à Pseudomonas aeruginosa. Protection de la
cobaye gestante par vaccination.
Rev.Franç.Gynéc. (1970) LXV n°4 , 225-230.
- 20 DUVAL, J./Lafaix, Ch.
Biologie du pyocyanique.
Rev.Prat. (11 juin 1962) XII n°17 , 1867-1875.
- 21 ESSELMANN, M.T./Liu, P.V.
Lecithinase production by gram negative bacteria.
J.Bact. (1961) LXXXI , 939-945.
- 22 FAJARDO, C.L./Laborde, H.F.
Pseudomonas vaccine.
J.Bact. (1968) XCV n°5 , 1968-1969.
- 23 FELLNER, I.
Control of Pseudomonas infections by the immune processes.
J.Trauma. (juillet 1967) VII , 93-95.
- 24 Pseudomonas vaccine & hyperimmune plasma in the
treatment fo the severely burned patients.
Ann.N-Y.Acad.Sci. (1968) CL n°3 , 1001-1003.
- 25 FELLNER, I./Hendrix, R.C.
Clinical pathologic study of sixty fatally burned patients.
Surg.Gynec.Obst. (1964) CXIX , 1-5.

- 26 FELLER, I./Kamei, I.
Pseudomonas vaccine & hyperimmune plasma in the treatment
of burned patients.
Amer.Coll.Surg.Forum. (1964) XV , 46-47.
- 27 FELLER, I./Pierson, C./Arbor, A.
Pseudomonas vaccine & hyperimmune plasma for burned patients.
Arch.Surg.USA. (août 1968) XCVII n°2 , 225-229.
- 28 FELLER, I./Vial, A.B./Callahan, W./Waldyke, J.
Use of vaccine and hyperimmune serum for protection
against Pseudomonas aeruginosa septicemia.
J.Trauma. (juillet 1964) IV , 451-456.
- 29 FISCHER, M.W./Delvin, H.B.
New immunotype schema for P.aeruginosa based on protection.
J.Bact. (1969) XCVIII- , 835-836.
- 30 FOX, J.E./Lowburry, E.J.L.
Immunity & antibody to P.aeruginosa in rabbits & man.
J.Path.Bact. (avril 1953) LXV , 533-542.
- 31 JONES, R.J.
Protection against P.aeruginosa infection by immunisation
with fractions of culture filtrates of P.aeruginosa.
Brit.J.Exper.Path. (1968) XLIX n°5 , 411-420.
- 32
Detoxification of an immunogenic fraction from a
culture filtrate of P.aeruginosa.
J.Hyg. Camb.G-B. (1969) LXVII n°2 , 241-247.
- 33 JONES, R.J./Jackson, D.M./Lowburry, E.J.L.
Antiserum & antibiotic in the prophylaxis of burns against P.a.
Brit.J.Plant.Surg. (1966) XIX n°1 , 43-57.

- 34 JONES, R.J./Lawrence, J.C.
Studies on extracts of heated and normal skin.
Brit.J.Exp.Pat. (1964) XLIV , 108-206.
- 35 KAWASAKI, N./Sugiyama, M./Kuwayama, Y.
Localisation d'un antigène préventif de *P.aeruginosa*
dans la cellule bactérienne.
Compte rendu de la société franco-japonaise de biologie
(1966) CLX n°4 , 879-882.
- 36 Spécificité de l'antigène préventif.
(1967) CLXI n°5 , 1161-1183.
- 37 Extraction d'antigène préventif de la paroi cellulaire.
(1967) CLXI n°5 , 1188-1190.
- 38 KEFALIDES, N.A./Arana, J.A./Bazan, A./Velarde, N./Rosenthal, S.M.
Role of infection in mortality from severe burns.
New England J.Med. (16 août 1962) CCLXVII n°7 , 317-323.
- 39 Evaluation of antibiotic prophylaxis & saline solution
therapy in severe burns.
Ann.Surg. (1964) CLIX , 496.
- 40 KRIZEK, T.J.
Experimental *Pseudomonas* burn sepsis.
J;Trauma. (mai 1967) VII , 433-442.
- 41 LABORDE, H.F./Fajardo, C.L.
Pseudomonas vaccine; Preparation & essay.
J.Bact.USA. (1965) XC n°1 , 290-291.
- 42 Appraisal of different purification methods.
J.Bact.USA. (1967) XCII n°1 , 508-509.

- 43 FABORDA, H.F./Fajardo, C.L.
Evaluation of a polyvalent vaccine.
J.Bact.USA. (1968) XCV n°5 , 1968-1969.
- 44
Obtention & essay of rabbit antipseudomonas serums.
J.Bact.USA. (1969) XCVIII n°3 , 992-995.
- 45 LESAGE-VIERS, D.
A propos du typage sérologique de cinquante deux
souches de bacille pyocyanique.
Thèse Paris. (1967).
- 46 LIU, P.V.
Survey of hemolysin production among species of Pseudomonas.
J.Bact.USA. (1957) LXXIV , 718-727.
- 47
Identification of pathogenic Pseudomonas by extracell antigen.
J.Bact.USA. (1961) LXXXI , 26-35.
- 48
Factors that influence toxigenicity of Pseomonas aeruginosa.
J.Bact.USA. (nov 1964) LXXXVIII n°5 , 1421-1427.
- 49
The roles of various fractions of Pseudomonas in its
pathogenesis; effects of lecithinase & protéase.
J.Inf.Dis. (1966) CXVI , 112-116.
- 50 LIU, P.V./Abe, Y./Bates, J.L.
The roles of various fractions of Pseudomonas aeruginosa
in its pathogenesis.
J.Inf.Dis.USA. (mars 1961) CVIII , 218-228.
- 51
Identity of the lethal toxins produced in vitro & in vivo.
J.Inf.Dis.USA. (1966) CXVI n°4 , 481-489.

- 52 MARKLEY, K.
Immunotherapy of *Pseudomonas aeruginosa* infections.
Ann.Interna.Med.USA. (fev 1967) LXVI n°2 , 443-445.
- 53 MARKLEY, K./Gurmendi, G./Chavez, P.M./Bazan, A.
Fatal *Pseudomonas* septicemias in burned patients.
Ann.Surg. (fev 1957) CXLV n°2 , 175-181.
- 54 MARKLEY, K./Smallman, E.
The roles of infection & immunity on mortality due to
shock in burned mice.
Fed.Proc. (1962) XXI , 118.
- 55 Factors affecting shock mortality in mice burned by scalding.
Ann.Surg. (juillet 1964) CLX , 146-159.
- 56 Protection by vaccination against *Pseudomonas*
aeruginosa infection after thermal injury.
J.Bact. (oct 1968) XCVI n°4 , 867-874.
- 57 Antibody production in mice after thermal and tourniquet trauma.
Arch.Surg. (1967) LXI , 896-903.
- 58 MERKLEN, F-P./Berthaux, P.
in "Immunologie générale et immunologie médicale".
Monographies médicales et scientifiques. Paris.
- 59 MILLICAN, R.C.
Role of infection in the delayed deaths of mice following
extensive burn injury.
Davis Co. (1962) 195.
- 60 MILLICAN, R.C./Evans, G./Markley, K.
Susceptibility of burned mice to *Pseudomonas aeruginosa*

and protection by vaccination.
Ann.Surg. (1966) CLXIII , 603-610.

61 MILLICAN,R.C./Rust,J.D.

Normal & hyperimmune serum therapy in experimental
Pseudomonas infections.

Jed. Soc. (1960) CVII , 512.

62 Efficacy of rabbit Pseudomonas antiserum in experimental
Pseudomonas aeruginosa infection.

J.Infect.Dis. (nov 1960) CVII , 389-394.

63 MONTEIL,R..Pantin,J.

Balnéothérapie et traitement local des grands brûlés.

G.M.deFrance. (25 oct 1969) LXXVI , 5116-5125.

64 MORIHARA,K.

Pseudomonas aeruginosa proteinase:purification.

Bioch.Biophys.Acta. (1963) LXXIII , 113-124.

65 MURASCHI,T.F./Bolles,D.M./Moczulski,C./Lindsay,M.

Serologic types of Pseudomonas aeruginosa based on heat
stable O antigens:correlation of HABS' & VERDEP

& EVANS' classifications.

J.Infect.Dis. (1965) CXVI , 84-88.

66 PECHERE,J.C.

Les antibiotiques:présentation et propriétés générales.

Rev.Prat. (11 dec 1969) XXIII n°20 , 4687-4705.

67 PREVOT,A.R.

in "Bactériologie médicale",Dumas.

ed Flammarion. (1969).

- 68 ROSENTHAL, S.M.
A procedure for measurement of wound healing, with
special reference to burns.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. (1966) CXXIII , 347-349.
- 69 ROSENTHAL, S.M./Millican, R.C./Rust, J.D.
A factor in human gamma globulin preparations active
against Pseudomonas aeruginosa infections.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. (1957) XCIV , 214.
- 70 VAN DEN ENDE, H.
Observations on the antigenic structure of P.aeruginosa.
J;Hyg.G-B. (1952) L , 405-414.
- 71 VERDER, E./Evans, J.
A proposed antigenic shema for the identification of
strains of Pseudomonas aeruginosa.
J.Infect.Dis. (1961) CIX , 183-193.
- 72 VICK, R./Rosenthal, S.M.
Role of infection in the delayed deaths of mice
following extensive burn injury.
Proc.Soc.Expt.Biol.Med. (1961) CVIII , 501-505.
- 73 Vieu, J.F.
La lysotypie et la pyovintotypie de P.aeruginosa.
Bull.Ins.Pasteur Paris LXXVII n°6 , 1231-1249.
- 74 ZAWACKI, B.E./Jones, R.J.
Standar depth burns in the rat: the importance of
the hair growth cycle.
Brit.J.Plast.Surg. (1967) XX , 347-354.

— o o o o o o o o o o o o o o o o o o o o o o o —

- 1 ALEXANDER, J.W./Heger, M./Altemeier, W.A.
Ann.Surg. (sept 1966) CLXVIII , 447-458.
- 2 ALLEN, R.J.L.
Biochem.J. (1940) XXXIV , 858.
- 3 ALMS, T.H./Bass, J.A.
Bact.Proceed. (1966) 65.
- 4 ALTEMEIER, W.A./Macmillan, B.G.
The dynamics of infection in burns.in "Research in burns"
ed Artz, C.P.
Washington; American Institute of biological Sciences
(1966) , 203-211.
- 5 BAILEY, B.N.
Brit.J.Plast.Surg. (1961) XIV , 243.
- 6 BERTOYE, A./Courtieu, A.L.
Traitement des infections provoquées par Pseudomonas
aeruginosa avec les bacteriophages adaptés par sélection.
J.Med.Lyon. (5 juin 1960) XLI , 739-751.
- 7 BROWN, V.I./Lowbury, D.J.J.
Clin.Path. (1965) XVIII , 752.
- 8 BOYD, W.C.
Fundamentals of immunology.
N-Y., Interscience Publishers, inc. (1967).
- 9 BOURSE, R.
Bacille pyocyannique et antibiotiques.
Thèse Toulouse. (1956) , 132 pages.

- 10 BRUTSAERT, P.
C.R.Soc.Biol.Paris. (1924) XC , 1290-1292.
- 11 BUTTIAUX, R.
Ann.Inst.Pasteur.Paris. (1961) VI supp , 43-58.
- 12 CASON, J.S./Jackson, D.M./Lowburry, E.J.L./Ricketts, C.R.
Brit.Med.J. (1966) , 1288
- 1 CHABBERT, Y./Courlieu, A.L.
Ann.Inst.Pasteur.Paris. (1961) VI supp , 100-113.
- 14 CHERNOMORDIK, A.B.
Structure antigénique de *Pseudomonas aeruginosa*.
Z.Microbiol.Moscou. (1953) LXI , 601-602.
- 15 CHAMBON, L./Fournier, J.
Ann.Inst.Pasteur.Paris. (1956) XCI , 355-362 , 742-485.

Ann.Inst.Pasteur.Paris. (1957) XCIII , 376-389.
- 17 CHAPMAN, S.S./Surgenor, D.M./Eaton, H.D.
Bact.Proceed. (1954) , 85.
- 18 CONN, H.J.
in "Manual of microbiological methods. 5^{ed}"
N-Y. Mac Graw-Hill. (1957) , 179.
- 19 CRUICKSHANK, C.N./Lowburry, E.J.
Brit.J.Exp.Path. (1953) XXXIV , 583-587.

- 20 DE-TURK, W.E.
The adaptive formation of urease by washed suspension
of *Pseudomonas aeruginosa*.
J.Bact. (1955) LXX , 187-191.
- 21 EDWARDS, P.R./Ewing, W.H.
Minneapolis. Burgess publishing company. (1955).
- 22 EGGERS, H./Wöckel, W.
Deutsch.Med.Wschr. (1958) LXXXIII , 174-180.
- 23 ELROD, R.P./Braun, A.C.
Science. (1941) XCIV , 520-521.
- 24 J.Bact. (1942) XLIV , 633-644.
- 25 J.Bact. (1947) LIII , 509-524.
- 26 J.Bact. (1947) LIV , 349-357.
- 27 ELSON, L.A./Morgan, W.T.J.
Biochem.J. (1953) XXVII , 1824.
- 28 ENJALBERT, L.
Problèmes courants de l'identification des *Pseudomonas*.
Ann.Inst.Pasteur.Paris. (juin 1961) C supp , 10-15.
- 29 EPSTEIN, J.W./Grossman, A.B.
Ama.J.Dis.Child. (1933) XLVI , 132-147.
- 30 ERWIN, C.P.
Etude clinique et de laboratoire sur les infections
à *Pseudomonas aeruginosa*.
Am.J.Med.Sc. (1952) CCXXVI , 525-532.

- 51 PAS. UELAND./Finland, M./Collins, H.S./Gocke, T.M./Wells, E.B.
Eléments de bactériologie médicale.
Ann.Inst.Med. (1949) XXI , 39-52.
- 52 FEINGOLD, D.S./Oski, F.
Arch.Int.Med. (1965) CXVI , 326-328.
- 53 Feller, I.
in "Research in burns".
ed Wallace, A.B. Edinburg.Livingston. (1966).
- 54 FISHER, M.W.
Synergism between human gamma globuli & chloramphenicol
in the treatment of experimental bacterial infections.
Antibiotics & Chemo.Ther. (1957) L , 1-20.
- 55 FISCHER, M.W./Manning, H.C..
Studies on the immunotherapy of bacterial infections.
The comparative effectiveness of human gamma
globuli against various bacterial species in mice.
J.Immunol. (1958) LXXXI , 29-31.
- 56 FLORMAN, A.L./Schiffrin, N.
J.Pediat. (1950) XXXVI , 758-766.
- 57 FRANK, E.D./MacDonald, J.B./Palmerio, C./Schweinburger, F.B./Fine, J.
Effects of hemorrhagic shock on viability of invading bacteria.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. (1961) CVI , 394.
- 58 FRANKEL, E.
Weitere Untersuchungen über die Menschen pathogenität
des Pseudomonas aeruginosa.
Z.Hyg.Infektion Skrankh. (1917) LXXXIV , 369-423.

- 39 FREEMAN, L.
Chronic general infection with the bacillus pyocyaneus.
Ann.Surg. (1916) LXIV , 195-202.
- 40 GAINES, S./Landy, M.
Bact.Proceed. (1954) , 63.
- 41
Prevalence of antibody to Pseudomonas in normal human sera.
J.Bact. (1955) LXIX , 628-633.
- 42 GOULD, J.C./MacLeod, J.W.
A study of the use of agglunating sera & phage lysis
in the classification of strains of P.aeruginosa.
Journ.Path.Bact. (avril 1960) LXXIX , 295-311.
- 43 GRABER, G.W./Wilkinson, S.G.
Measurement of the protective effect of antibody in
burned & unburned patients sera for Pseudomonas
aeruginosa infected mice.
Texas Rep.Biol.Med. (1961) XIX , 268-275.
- 44 GRAY, G.W./Wilkinson, S.G.
The effect of E.D.T.A. on the cell wall of some
gram negative bacteria.
J.Gen.Microbiol.G-B. (1965) XXXIX , 385-399.
- 45
The action of E.D.T.A. on Pseudomonas aeruginosa.
J.Appl.Bact. (1965) XXVIII n°1 , 152-164.
- 46 GROVES, E.H.
Case of bacillus pyocyaneus pyaemia successfully
treated by vaccine.
Brit.Med.J. (1909) I , 1169-1170.

- 37 Untersuchungen über die O-Antigene von *P.aeruginosa*.
D.Hyg.Infektionskr. (1947) CXLIV , 216-228.
- 40 HALLECK, F.E./Burkin, L.A./Guschlbauer, W.
D Nases of two *Pseudomonas* cultures & their relation
to slime production.
- 48 HAYNES, W.C.
P.aeruginosa its characterization & identification.
J.Gen.Microbiol. (1951) V , 939-950.
- 50 LEIDENBERGER, L./Kendall, F.E./Scharp, H.W.
J.Exp.Med. (1931) LIV , 515.
- 51 J.Exp.Med. (1936) LXIV , 559-572.
- 52 HIRSCH, J./Ahrens, E.H.
J.Biol.Chem. (1956) CCXXXIII , 311-320.
- 53 HOLLOWAY, B.W.
Grouping *Pseudomonas aeruginosa* by lysogenicity
and pyocinogenicity.
J.Path.Bact. (1960) LXXX , 448-450.
- 54 HOLLOWAY, B.W./Egan, J.B./Honk, M.
Lysogeny in *Pseudomonas aeruginosa*.
Aust.J.Exp.Biol.Med.Scie. (mai 1960) XXXVIII , 321-330.
- 55 HOMMA, J.Y./Sagahashi, K./Hosoy, S.
Serologic types of *Pseudomonas aeruginosa*.
Jap.J.Exp.Med. (décembre 1951) XXI , 375-379.

- 56 HOSOGAYA, S./Homma, Y./Egami, F./Yagi, Y.
Isolation of antigenic substance from *P.aeruginosa*.
Jap.J.Exp.Med. (1 mars 1949) XX , 55-68.
- 57 HURST, V./Sutter, V.L.
Survival of *P.aeruginosa* in the hospital environment.
J.Inf.Dis.USA. (1965) , 151-154.
- 58 JACOBSTHAL, E.
Muenchen.Med.Wschr. (1912) LIX , 1247-1248.
- 59 JACKSON, D.M./Lowburry, E.J.L./Topley, E.
Lancet. (1951) , 137.
- 60 JACKSON, E./Hartmann, F.W.
Experimental bacillus pyocyaneus keratitis.
J.Lab.&Clin.Med. (1927) XII , 442-450.
- 61 JONES, A.
J.Clin.Path. (1964) XVII , 460.
- 62 JONES, R.J./Dyster, S.E.
J.Inst.Anim.Techn. (1967) XVIII , 96.
- 63 JONES, R.J./Lowburry, E.J.L.
Lancet. (1965) , 623.
- 64 in "Research in burns"
ed Wallace, A.B. Edinburg.Livingstone. (1966).
- 65 Prophylaxis & therapy for *Pseudomonas aeruginosa*
infection with carbenicillin & with gentamicin.

- 66 KABAT, E.A./Mayer, M.M.
in "Experimental immunochemistry, ed 2"
Springfield, Charles, C.T. (1961).
- 67 KANZAKI, K.
Zbl.Bakt.Orig. (1964) CXXXIII , 89-101.
- 68 KISHIMOTO, I.
Zbl.Bakt.Orig. (1965) CLVI , 117-141.
- 69 KLINGE, K.
Differenzierung der im Wasser Vorkommenden Bakterien
des genus Pseudomonas durch die Eigelbreaktion.
Arch.Hyg.Bakteriol. (1957) CXLI , 348-360.
- 70 KOHLER, W.
Z.Immunitaetsforsch. (1957) CXIV , 282-302.
- 71 LANYI, B.
Acta.Microbiol.Hung. (1966-67) XIII , 295.
- 72 LAURENT, T.C./Kilander, J.
J.Chromat. (1964) XIV , 317.
- 73 LAWRENCE, J.C.
Brit.J.Pharmacol. (1959) XIV , 168.
- 74 in "Wound healing"
ed Slome, Oxford. Pergamon. Press. (1961) , 32.
- 75 LAWRENCE, J.C./Ricketts, C.R.
Exp.Cell.Res. (1957) XII , 645.

- 76 LIEDEBERG, C.F.
Antibacterial resistance in burns; I: The effect of
intraperitoneal infection on survival & the frequency
of septicemia. An experimental study in the guinea pig.
Acta. Chir. Scand. (1960) CXX , 88.
- 77 II: The effect on unspecific humoral defense mechanism,
phagocytosis & the development of bacteremia.
Acta. Chir. Scand. (1961) CXXI , 351.
- 78 LIEDEBERG, C.F./Reiss, E./Artz, C.P.
III: Septicemia, a common cause of death.
Surg. Gynec. Obst. (1964) IC , 151.
- 79 LINDBERG, T.C./Killander, J.
J. Chromat. (1964) XIV , 317.
- 80 LIU, P.V.
J. Gen. Microbiol. (1961) XXIV , 145.
- 81 LOSNEGARD, N./Oeding, P.
Acta. Path. Microbiol. Scand. (1963) LVIII , 482-500.
- 82 LOWBURY, E.J.L.
Brit. J. Plast. Surg. (1967) XX , 211.
- LOWBURY, E.J.L./Fox, J.E.
Epidemiology of infection with *Pseudomonas aeruginosa*
in burns unit.
J. Hyg. Lond. (1954) LII , 403-416.

MACMILLAN, B.G./Hill, E.D./Altemeier, W.A.

Arch.Surg. (1967) XCV , 472.

MACRIPLEY, R.J.

The effect of thermal injury on host defensive mechanisms
against *P.aeruginosa* in guinea pigs & rats.

Doctoral Dissertation, University of Michigan. (1964).

MACRIPLEY, R.J./Garrison, D.W.

Increased susceptibility of burned rats to *P.aeruginosa*.

Proc.Soc.Exp.Biol.Med. (fev 1964) CXV n°2 , 336-338.

LAGOVRER, G.I./Harrison, C.S.

The effect of thermal trauma on antibody formation in rabbits.

Am.Surgeon. (1957) XXIII , 257-263.

MALT, R.A./Cope, O.

Antibody production after certain forms of trauma.

Surgery. (1956) XXXIX , 959-969.

MARTIN, H.H.

J.Theor.Biol. (1963) V , 1.

MAYER-HARTING, A.

The serology of *Pseudomonas aeruginosa*.

J.Gen.Microbiol (11 janv 1948) II , 31-39.

MEADER, P.D./Robinson, G.H.

Amer.J.Hyg. (1924) IV , 403-404.

Amer.J.Hyg. (1925) V , 682-708.

- 93 MEILER, E./Meiter, T.
Recherche sur le pouvoir immunogène de souches de
Pseudomonas aeruginosa de divers groupe O.
Zbl.Bakteriol.Parasitenkde.Infekt.Krankh.Hyg. 1/2, Dtsch.
(1968) XXVIII n°4 , 515-521.
- 94 MILES, A.A./Niven, J.S.F.
The enhancement of infection during shock produced by
bacterial toxins & other agents.
Brit.J.Exp.Path. (1950) XXXI , 73.
- 95 MONTAGNA, W.
in "The structure & fonction of skine"
Academic Press, N-Y. (1962).
- 96 MOUSTARDIER, G.
Microbiologie médicale. 2 vol.
Maloine ed, Paris. (1954).
- 97 MOYER, C.A./Brentano, L./Gravens, D.L./Margraf, H.W./Monafo, W.W.
Arch.Surg.Chicago. (juin 1965) XC , 812-867.
- 98 MULL, J.O./Callahan, W.S.
Exp.Mol.Path. (1965) IV , 567.
- 99 MULLER, H./Kleinmaier, H.
Z.Hyg.Infektionskr. (1958) CXLV , 85-91.
- 100 MUNOZ, J./Scherago, E./Weaver, R.H.
A serological study of members of the P.aeruginosa.
J.Bact. (1949) LVII , 269-278.

- 101 NIGG,C./Heckly,R.J./Collins,M.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. (1955) LXXXIX , 17-20.
- 102 OSMAN,M.A.
Pyocine typing of *Pseudomonas aeruginosa*.
J.Clin.Path. (mars 1965) XVIII , 200-202.
- 103 OUCHTERLONY,O.
Acta.Path.Microbiol.Scand. (1948) XXV , 186-191.
- 104 PERCH,B.
Acta.Path.Microbiol.Scand. (1950) XXVII , 565-571.
- 105 PEREZ-ALVA,S./Bazan,A.
Clinical & experimental study of *Pseudomonas aeruginosa*
infection in burned patients.
Rev.d.Hosp.d.Niño. (1957) LI , 244-252.
- 106 POLK,H.C./Ward,C.G./Clarkson,J.G./Taplin,D.
Dépistage précoce des infections des brûlures par *Pseudomonas*
expérience clinique avec fluorescence à la lumière de Wood.
Arch.Surg. (mars 1969) XCIII n°3 , 292-295.
- 107 RABIN,E.R./Graber,C.D./Vogel,E.H./Finkelstein,R.A./Tumbusch,W.A.
Fatal *Pseudomonas* infection in burned patients.
A clinical,bacteriologic & anatomic study.
New England J.Med. (21 dec 1961) CCLXV n°25 , 1225-1231.
- 108 REED,I.S./Muench,H.
Am.J.Hyg. (1938) XXVII , 493.

- 109 ROSENTHAL, S.M./Lillie, R.D./Verder, E.
Influence of chemotherapy in experimental on the delayed
deaths following extensive burns in mice.
Fed.Proc. (1952) XI , 387.
- 110 ROSENTHAL, S.M./Millican, R.C./Rust, J.D.
Local & systemic therapy of Pseudomonas septicemia in
burned mice.
Ann.Surg. (janv 1967) CLXV n°1 , 97-103.
- 111 Chemotherapy of Pseudomonas septicemia in burned mice.
Brit.J.Pharmacol. (juillet 1968) XXXIII , 537-543.
- 112 RUDGE, J.M.
J.Clin.Path. (1960) XIII , 530.
- 113 SALTON, M.R.J.
The bacterial cell wall.
Elsemer publishing compny. (1964) , 244.
- 114 SANDVIK, O.
Serological comparison between strains of Pseudomonas
aeruginosa from human & animal sources.
Acta.Path.Microbiol.Scand. (1960) LXXII , 360-367.
- 115 SCHERER, W.F.
Amer.J.Path. (1955) XXIX , 113-137.
- 116 SCHULTZ, E.W.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. (1947) LXV , 289-291.
- 117 SCHWARZ, L.H./Lazarus, J.
J.Bact. (1947) LIII , 506.

- 118 SCHWERT, G.W./Takenaka, Y.
Biochem. Biophys. Acta. (1955) XVI , 570-575.
- 119 SIMON, R.D.
Use of fermentation reactions & pigment production to
differentiate between types of *Pseudomonas aeruginosa*
& other *Pseudomonas* species, especially *fluorescens*.
Brit. J. Exp. Path. (oct 1965) XXXVII , 494-499.
- 120 SOMOGYI, K.S.
J. Biol. Chem. (1945) LXI , 160.
- 121 STANLEY, R.M.
Amer. J. Med. (1947) II , 253-247.
- 122 STAVITSKY, A.D.
Micromethods for the study of proteins & antibodies.
J. Immunol. (1954) LXXII , 360-367.
- 123 STONE, H.H.
Pseudomonas toxemia of burns, its origin, significance & control.
J. Med. A. Georgia. (août 1965) LIV , 277.
- 124 Review of *Pseudomonas* sepsis in thermal burns,
Ann. Surg. (fev 1966) CLXIII n°2 , 297-305.
- 125 STONE, H.H./Martin, J.D./Graber, C.D.
Verdoglobinuria: an ominous sign of *Pseudomonas*
septicemia in burns.
Ann. Surg. (juin 1964) CLIX n°6 , 991-995.
- 126 Delayed rejection of skin homografts in *Pseudomonas* sepsis.
Surg. Gynec. Obst. (mai 1967) CXXIV , 1067-1070.

- 127 STONE, H.H./Martin, J.D./Huger, W.E./Kolb, L.
Surg.Gynec.Obst. (fev 1965) CXX n°2 , 351-152.
- 128 SUTTER, V.L.
A standardized system for phage typing *P.aeruginosa*.
Health Lab.Sci. (janv 1965) II , 7-16.
- 129 TEPLITZ.
Pseudomonas burn wound sepsis.
J.Surg.Res. (mai 1964) IV , 200-216.
- 130 TESSLER, R./Polk, H.C.
Pseudomonas burn sepsis in patients treated.
Surgery. (mai 1967) LXI n°5 , 705-710.
- 131 TINELLI, R./Staub, A.M.
Bull.Soc.Chem.Biol. (1959) XLI , 1221-1231.
- 132 TROMMSDORFF, R.
Zbl.Bakt.Orig. (1916) LXXVIII , 493-502.
- 133 TUMBUSSCH, W.J./Vogel, E.H./Butkiewicz, J.V./Graber, C.D./Larson, D.L.
J.Trauma. (1961) , 22.
- 134 VERDER, E./Rosenthal, S.M.
Role of infection in the delayed deaths of mice following
extensive burn injury.
Proc.Soc.Exptl.Biol.Med. (1961) CVIII , 501-505.
- 135 VERON, M.
Pseudomonas pigmentes.
Ann.Inst.Pasteur.Paris. (1961) VI supp , 16-42.

SINGULIERE CHAPITRE.

Expérimentations Humaines.	p. 157.
Travaux de FELLER	p. 159.
Travaux de ALEXANDER et FISCHER.	p. 169.

CONCLUSIONS p. 179.

BIBLIOGRAPHIE. p. 185 A.
Articles ayant servi à cette étude p. 186 B.
Articles ayant trait au *Pseudomonas aeruginosa* p. 195 K.

PLAN du Travail. p. 211.



PLAN de Notre TRAVAIL.

INTRODUCTION p. 8.

PREMIER CHAPITRE p. 11.

Le Brûlé.

DEUXIEME CHAPITRE.

Pseudomonas aeruginosa p. 19.

TROISIEME CHAPITRE.

Protection Anti-*Pseudomonas aeruginosa* p. 63.

QUATRIEME CHAPITRE.

Bilan des Recherches p. 75.

Travaux de MARKLEY et SMALLMAN p. 81.

Travaux de JONES p. 97.

Travaux de MILLICAN, RUST et EVANS. p. 113.

Travaux de ALMS et BASS. p. 131.

Travaux de LABORDE et FAJARDO. p. 139.

Vu le Président de Thèse,

Vu le Doyen,

Monsieur le Professeur DAGUET, G.L.

Monsieur le Professeur BEAUMONT, J-I.

Vu le Recteur.

